

**Analytik von wasserlöslichen  
Polysacchariden und Polysaccharidderivaten mittels  
Größenausschlusschromatographie  
kombiniert mit  
Vielwinkellaserlichtstreuung und  
Konzentrationsdetektion.**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades  
des Fachbereichs Chemie  
der Universität Hamburg

vorgelegt von  
Pascal M. J. Pfefferkorn  
aus Hamburg

Hamburg 2004

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von Oktober 2001 bis Juni 2004 am Institut für Technische und Makromolekulare Chemie der Universität Hamburg unter der Leitung von Herrn Prof. Dr.-Ing. W.-M. Kulicke angefertigt.

1. Gutachter: Prof. Dr.-Ing. W.-M. Kulicke
2. Gutachter: Prof. Dr. H.-U. Moritz

Tag der Disputation: 18.06.2004

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr.-Ing. W.-M. Kulicke für seine Begleitung und Unterstützung sowie die Schaffung optimaler Arbeitsbedingungen.

Herrn Prof. Dr. H.-U. Moritz danke ich für die freundliche Übernahme des Korreferats.

Herrn Prof. Dr. Heinze und Herrn Dr. Liebert danke ich für die Kooperation und die gute Zusammenarbeit im Projekt der Acetylstärken.

Herrn Dr. Kull und Herrn Dr. Thielking von der Firma Wolff Cellulosics danke ich für die Bereitstellung der Proben und die Unterstützung.

Frau Dr. Viala und Herrn Dr. Schäfer von der Firma Beiersdorf danke ich für die Bereitstellung der Proben.

Herrn Nielsen von der Firma Fresenius danke ich für die Überlassung der Hydroxyethylstärke.

Der Universitätsklinik Eppendorf (UKE) danke ich für die Überlassung von Blutplasmaexpanderlösung.

Außerdem danke ich dem gesamten Arbeitskreis für die stetige Diskussionsbereitschaft und die gute Zusammenarbeit.



## Publikationen/Posterbeiträge

Pfefferkorn, P., Beister, J., Hild, A., Thielking, H., Kulicke, W.-M.,  
*Determination of the molar mass and the radius of gyration, together with their  
distributions for methylhydroxyethylcelluloses*, in: Cellulose, 10 (2003), 27-36

Pfefferkorn, P., Lohmann, C., Kulicke, W.-M.,  
*Bestimmung der Molmassen und Teilchengrößen sowie deren Verteilungen von  
Hydroxyethylstärken im Hinblick auf den Einsatz als Blutplasmaexpander*,  
Hamburger Makromolekulares Symposium 2003, 8-9. September,  
ISBN 3-00-012171-4, S.38-39

## Vorträge

Clasen, C., Pfefferkorn, P., Kulicke, W.-M., Schwerpunktprogramm der Deutschen  
Forschungsgemeinschaft DFG, Symposium Cellulose und Cellulosederivate –  
molekulares und supramolekulares Strukturdesign, DFG 1011,  
*„Bestimmung der Lösungs- sowie komplexer Überstrukturen von Cellulosederivaten  
in verdünnten bis mäßig konzentrierten Lösungen“*,  
Jena, 13-16. Oktober 2002,



## Zusammenfassung

Wasserlösliche Polymere auf der Basis von nachwachsenden Rohstoffen, wie z.B. die Polysaccharide, Cellulose und Stärke, gewinnen aufgrund ihrer Umweltverträglichkeit zunehmend an Bedeutung. Insbesondere die CO<sub>2</sub>-Neutralität, die physiologische Verträglichkeit und die biologische Abbaubarkeit und ihr vielfältiges Einsatzspektrum z.B. als Fließverbesserer, Kleber, Satbilisator Filmbildner sowie Verdickungsmittel eröffnen Einsatzgebiete in industriellen Anwendungen. Der Einsatz von Hydrokolloiden auf der Basis von nachwachsenden Rohstoffen benötigt eine genaue Charakterisierung, um ein bestimmtes Eigenschaftsprofil einzustellen, da ihre Eigenschaften stark mit der Rohstoffquelle und der chemischen Modifikation variieren. Die Eigenschaften von Polymeren in Lösung werden maßgeblich von der Molmasse, der Teilchengröße und deren Verteilungen beeinflusst.

Polysaccharide und Polysaccharidderivate in wässrigen Lösungen sind bislang nur unvollständig erforscht, da sie komplex aufgebaut sind und zur Ausbildung von Überstrukturen (Aggregate, Assoziate) neigen. Im Rahmen dieser Arbeit sollten ausgewählte wasserlösliche Polysaccharide und Polysaccharidderivate hinsichtlich der Molmasse, der Teilchengröße sowie deren Verteilungen charakterisiert werden. Die Analyse der Substanzen erfolgte mit einer Absolutmethode, einer kombinierten Anlage aus Größenausschlusschromatographie *SEC*, Vielwinkellaserlichtstreuung *MALLS* und Konzentrationsdetektion *RI*, die sowohl die gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  und den Gyrationradius  $R_G$  als auch deren Verteilungen ermittelt. Zusätzlich sollten die Parameter für die Erstellung von Struktur-Eigenschafts-Beziehungen bestimmt werden. Die in dieser Arbeit ermittelten Struktur-Eigenschafts-Beziehungen sind die  $R_G$ - $M$ - und  $[\eta]$ - $M$ -Beziehungen (Mark-Houwink-Beziehung), die einen Zusammenhang zwischen dem Gyrationradius  $R_G$  bzw. dem Staudingerindex  $[\eta]$  und der Molmasse beschreiben.

Es wurden Substanzen aus verschiedenen Gruppen von Polysacchariden untersucht. Zu denen gehörten Standards der Pullulane und Dextrane. Bei den Stärkederivaten wurden die Amylopektinderivate Hydroxyethylstärke *HES* und Acetylstärke *AS* untersucht. In der Gruppe der Cellulosederivate wurden Methylcellulose *MC*, Carboxymethylcellulosen *CMC*, Methylhydroxyethylcellulosen *MHEC* und hydrophob modifizierte Hydroxyethylcellulosen *hmHEC* charakterisiert.

Für den Einsatz der Acetylstärken als medizinisches Produkt im Bereich der Blutplasmaersatzmittel ist nicht nur die Molmasse und Molmassenverteilung, sondern auch die Lagerstabilität in Lösung wichtig. Zielsetzung war die Bestimmung der Molmasse und deren Verteilung sowie der Lagerstabilität von 2-O-Acetylstärken in Lösung. Insgesamt wurden 13 Acetylstärken untersucht, die eine gute Lagerstabilität zeigten. Als Methoden kamen die kombinierte Anlage *SEC/MALLS/RI*, Viskosimetrie, *NMR*-Spektroskopie und die enzymatische Essigsäurebestimmung mittels *UV/VIS-Spektroskopie* zum Einsatz.

Zur Erstellung von Struktur-Eigenschafts-Beziehungen wurden 6 Methylcellulosen untersucht, deren DS zwischen 1,8 und 2,1 und deren Staudingerindizes  $[\eta]$  zwischen  $224 \text{ cm}^3/\text{g}$  und  $1017 \text{ cm}^3/\text{g}$  lagen. Die gewichtsmittlere Molmasse variierte von  $65.000 \text{ g/mol}$  bis  $351.000 \text{ g/mol}$ . Bei den Carboxymethylcellulosen wurden 8 Proben einer Molmassenreihe mit einem durchschnittlichen Substitutionsgrad von 1 im Molmassenbereich von  $176.000 \text{ g/mol}$  bis  $1.157.000 \text{ g/mol}$  charakterisiert. Die ermittelten Struktur-Eigenschafts-Beziehungen sind in der Tabelle 1 aufgeführt.

Der Einfluss aggregierender Systeme wurden bei 14 Proben hydrophob modifizierte Hydroxyethylcellulosen *hmHEC* mit Unterschieden in der Länge der hydrophoben Alkylkette von 8 bis 22 (C-Atom Anzahl) und im hydrophoben Anteil von 0,10 bis 3,29 Gewichtsprozent untersucht. Es gelang die Charakterisierung von 5 Substanzen.

Bei den 10 Proben der Methylhydroxyethylcellulosen handelte es sich um zwei Gruppen mit verschiedenen Mischungsverhältnissen von drei modifizierten Zellstoffen. Durch das unterschiedliche Abmischen wurden innerhalb einer Gruppe Proben mit unterschiedlichen Verteilungsbreiten erzeugt. Die Auswirkungen auf die gewichtsmittlere Molmasse, den Gyrationradius und deren Verteilungen wurden bestimmt.

*Tabelle 1: Struktur-Eigenschafts-Beziehungen, die im Rahmen dieser Arbeit erstellt wurden.*

<b><i>R<sub>G</sub>-M Beziehung</i></b>		<b><i>[\eta]-M-Beziehung</i></b>		<b><i>25°C</i></b>	
$K_{RG}$	$\nu$	$K_{[\eta]}$	$a$	Lösungsmittel	Verbindung
$2,34 \cdot 10^{-1}$	0,45	$8,82 \cdot 10^{-3}$	0,91	0,1 M NaNO <sub>3</sub>	MC
$2,16 \cdot 10^{-1}$	0,47	$1,06 \cdot 10^{-3}$	1,05	0,1 M NaNO <sub>3</sub>	CMC
$4,67 \cdot 10^{-2}$	0,46	$1,69 \cdot 10^{-1}$	0,46	0,1 M NaNO <sub>3</sub>	Dextrane
$6,19 \cdot 10^{-3}$	0,65	$4,65 \cdot 10^{-4}$	0,95	0,1 M NaNO <sub>3</sub>	Pullulane
$3,22 \cdot 10^{-2}$	0,57	-	-	0,1 M NaNO <sub>3</sub>	$\lambda$ -Carrageenan

---

## Summary

Water soluble polymers based on renewable resources, e.g. polysaccharides, cellulose and starch, are becoming more significant nowadays due to the fact that they are environment-friendly (due to their recyclability). Especially due to their CO<sub>2</sub>-neutrality, physiological compatibility, biodegradability and wide range of application, e.g. as flowenhancer, glue, stabilizer, film forming agents as well as thickener, these polymers have potential uses in different areas of industrial production. The use of hydrocolloids based on renewable resources needs an exact characterization of the polymer in order to achieve defined material properties. This is due to the fact that their characteristic properties vary considerably according to which raw materials are used and their chemical modification. The properties of polymers in solution is mainly given by the molar mass, the radius of gyration and their distributions.

Research into polysaccharides and their derivatives in aqueous solutions has so far been incomplete, because of their complex structure and their tendency to build up superstructures (associates and aggregates).

In the course of this thesis, selected water soluble polysaccharides and their derivatives were characterized in regards of the molar mass, the radius of gyration and their distributions. The analysis of the substances was carried out with a combined absolute method of size exclusion chromatography *SEC* with multi-angle laser light scattering *MALLS* and concentration detection via refractive index measurements *RI*. The average molar mass  $M_w$ , the radius of gyration  $R_G$  and their distributions were determined with the aid of the combined method. In addition the parameters for drawing up structure-property-relationships had to be determined. The structure-property-relationships determined in this thesis are the Mark-Houwink-relationship ( $[\eta]$ - $M$ -relationship) and the  $R_G$ - $M$ -relationship which describe a link between the molar mass and the intrinsic viscosity  $[\eta]$  or the radius of gyration  $R_G$ .

Different polysaccharides were examined. These were pullulan and dextran standards for the purpose of specification. From the starch derivatives hydroxyethyl starch *HES* and acetyl starch *AS* were examined and from the cellulosic derivatives methyl cellulose *MC*, carboxymethyl cellulose *CMC*, methylhydroxyethyl cellulose *MHEC* and hydrophobic modified hydroxyethyl cellulose *hmHEC* were characterized.

In order to use acetyl starch as a medical application in the field of blood plasma substitution, it is not only the molar mass and its distribution which are important, but in addition its stability when stored in solution (storing stability in solution).

The objective was the determination of the molar mass, its distribution and the stability of 2-O-acetyl starch when stored in solution. Altogether 13 acetyl starches were investigated. These substances demonstrated a good stability when stored in solution. Several methods, the combined equipment *SEC/MALLS/RI*, the *NMR*-spectroscopy and an enzymatic acetic acid test via *UV/VIS*-spectroscopy were used to validate this.

To compile structure-property-relationships 6 methyl celluloses were examined. Their *DS* was between 1,8 and 2,1 and their intrinsic viscosity ranged from 224 cm<sup>3</sup>/g to 1017 cm<sup>3</sup>/g. The average molar mass varied from 65.000 g/mol to 351.000 g/mol. With the carboxymethyl celluloses 8 samples of a molar mass series with an average substitution degree of 1 and a molar mass range from 176.000 g/mol to 1.157.000 g/mol were characterized. The determined structure property relationships are listed in table 2.

The influence of aggregating systems was investigated on 14 samples of hydrophobic modified hydroxyethyl cellulose *hmHEC* with deviations in the length of the hydrophobic alkyl chain of 8 to 22 c-atoms and in its hydrophobic content of 0,10 to 3,29 weight percentage. As a result of this investigation 5 samples could be characterized.

The 10 samples of methylhydroxyethyl cellulose could be divided into two groups made out of 3 different modified pulps in different mixing ratios. Due to the mixing ratio variations within a group, samples with differing distribution of the molar mass were produced. The effects on the average molar mass, the radius of gyration and their distributions were determined.

tabel 2: Structure-property-relationships resulting from this survey.

<i>R<sub>G</sub>-M-relationship</i>		<i>[η]-M-relationship</i>		<i>25°C</i>	
<i>K<sub>RG</sub></i>	<i>v</i>	<i>K<sub>[η]</sub></i>	<i>a</i>	Solvent	Substance
2,34 * 10 <sup>-1</sup>	0,45	8,82 * 10 <sup>-3</sup>	0,91	0,1 M NaNO <sub>3</sub>	MC
2,16 * 10 <sup>-1</sup>	0,47	1,06 * 10 <sup>-3</sup>	1,05	0,1 M NaNO <sub>3</sub>	CMC
4,67 * 10 <sup>-2</sup>	0,46	1,69 * 10 <sup>-1</sup>	0,46	0,1 M NaNO <sub>3</sub>	Dextran
6,19 * 10 <sup>-3</sup>	0,65	4,65 * 10 <sup>-4</sup>	0,95	0,1 M NaNO <sub>3</sub>	Pullulan
3,22 * 10 <sup>-2</sup>	0,57	-	-	0,1 M NaNO <sub>3</sub>	λ-Carrageenan

---

1	Einleitung.....	1
2	Polysaccharide.....	4
2.1	Stärke und Stärkederivate.....	7
2.2	Blutplasmaersatzmittel.....	11
2.2.1	Grundlagen zu den Blutplasmaersatzmitteln.....	11
2.2.2	Entwicklung der Blutplasmaersatzmittel.....	12
2.2.3	Aktuell verwendete Blutplasmaersatzmittel.....	14
2.2.4	Blutplasmaersatzmittel Hydroxyethylstärke.....	15
2.2.4.1	Mikrozirkulationsverbesserung durch Hydroxyethylstärke.....	16
2.2.4.2	Elimination von Hydroxyethylstärke im Organismus.....	17
2.2.4.3	Acetylstärke als alternatives Blutplasmaersatzmittel.....	21
2.3	Cellulose und Cellulosederivate.....	22
3	Theoretische Grundlagen.....	25
3.1	Molmassenverteilung und Molmassenmittelwerte.....	25
3.2	Molmassenbestimmung.....	27
3.3	Lösungsstruktur von Polymeren.....	28
3.4	Größenausschlusschromatographie.....	32
3.4.1	Historischer Überblick der Größenausschlusschromatographie.....	32
3.4.2	Theoretische Grundlagen zur Größenausschlusschromatographie.....	33
3.4.3	Limitation der Größenausschlusschromatographie.....	37
3.4.4	Kombination der SEC mit Detektoren.....	40
3.5	Lichtstreuung.....	43
3.5.1	Rayleighstreuung.....	44
3.5.2	Debye Streuung.....	50
3.5.3	Doppelextrapolation nach Zimm (Zimm-Diagramm).....	52
3.5.4	Auswertung der Lichtstreudaten mit der Software ASTRA.....	54
3.6	Refraktometrie (Brechungsindexinkrement).....	57
3.7	Viskosimetrie.....	59
3.8	Ultraschalldegradation.....	63
4	Ergebnisse.....	66
4.1	Überprüfung der Methode mit Standards.....	66
4.1.1	Rinderserum Albumin BSA.....	66

---

4.1.2	Dextrane.....	68
4.1.3	Pullulan.....	76
4.2	Charakterisierung von Polysaccharidproben.....	81
4.3	Hydroxyethylstärke HES.....	81
4.4	Acetylstärken AS.....	90
4.4.1	Lagerstabilität der Acetylstärken.....	105
4.4.1.1	Lagerstabilität mittels Viskosimetrie.....	106
4.4.1.2	Lagerstabilität mittels SEC/MALLS/RI.....	109
4.4.1.3	Lagerstabilität mittels enzymatischem Essigsäurenachweis.....	113
4.4.1.4	Lagerstabilität mittels NMR-Spektroskopie.....	116
4.5	Methylcellulose MC.....	120
4.6	Hydrophob modifizierte Hydroxyethylcellulose hmHEC.....	132
4.7	Carboxymethylcellulose CMC.....	144
4.8	Methylhydroxyethylcellulose MHEC.....	159
4.9	Lambda-Carrageenane.....	176
5	Fazit und Ausblick.....	184
6	Fehlerdiskussion.....	192
7	Experimenteller Teil.....	194
7.1	Lösungs- und Elutionsmittel.....	194
7.2	Proben und Probenvorbereitung.....	194
7.3	Ultraschalldegradation.....	194
7.4	Viskosimetrieanlage.....	195
7.5	Enzymatische Essigsäurebestimmung mittels UV/VIS.....	195
7.6	SEC-Anlage (SEC/MALLS/RI).....	196
7.6.1	SEC-Säulen .....	197
7.6.2	Detektion.....	198
7.7	Brechungsindexinkrement.....	198
7.8	NMR-Spektroskopie.....	198
7.9	Enzymatische Degradation von Stärke.....	199
8	Abkürzungsverzeichnis.....	200
9	Literaturverzeichnis.....	203

## 1 Einleitung

Polysaccharide gehören zur Gruppe der nachwachsenden Rohstoffe. Der Begriff „nachwachsende Rohstoffe“ ist ein relativ neuer Begriff und tritt erst nach 1980 im Duden auf. Er beinhaltet eine Vielzahl unterschiedlicher land- und forstwirtschaftlicher Rohstoffe, die nicht im Nahrungs- oder Futtermittelsektor verwendet werden. Zu ihnen zählen Öle, Fette, Polysaccharide (z.B. Cellulose und Stärke) und Zucker, die sich im Gegensatz zu fossilen Rohstoffen in einem bestimmten überschaubaren Zeitraum erneuern [1]. Bis zur Entdeckung der Kohle und des Erdöls waren die nachwachsenden Rohstoffe die wichtigsten Rohstofflieferanten im Non-Food-Bereich. In den siebziger Jahren bewirkten die Energiekrisen aufgrund der hohen Abhängigkeit von fossilen Rohstoffen eine Rückbesinnung auf nachwachsende Rohstoffe für den Non-Food-Bereich. In der heutigen Zeit erhalten nachwachsende Rohstoffe wieder eine zunehmende Bedeutung aufgrund des steigenden Umweltbewusstseins in der Bevölkerung und der Politik. Es ist die begrenzte Verfügbarkeit und die Schonung fossiler Rohstoffe, die das Interesse auf die Verwendung von nachwachsenden Rohstoffen an Stelle petrochemischer Produkte zusätzlich verstärkt [2] [3].

In den letzten zwei Jahrzehnten wurden die Hersteller durch die Einführung und die Veränderung von Gesetzen zu einer umweltgerechten Entsorgung und Recycling ihrer gefertigten Produkte verpflichtet. In der Diskussion über Rohstoffkosten im Vergleich mit Werkstoffen auf Basis fossiler Rohstoffe werden deshalb auch die Entsorgungskosten mit einbezogen, die bei nachwachsenden Rohstoffen aufgrund der biologischen Abbaubarkeit und des guten Recyclings (z.B. Kompostierbarkeit oder recycelbare Verpackungen auf Cellulosebasis) geringer bis gar nicht vorhanden sind [4].

Makromoleküle sind in unserem Leben omnipräsent und werden industriell z.B. in der Kosmetik-, Pharma-, Nahrungsmittel-, Getränke-, Farben-, Bau-, Papier-, Kabel- und Textilindustrie sowie in der Erdölförderung eingesetzt. Sie dienen dort als Verdickungsmittel, Emulgatoren, Fließverbesserer, Stabilisator, Bindemittel, Flockungsmittel, Kleber, Anstrich

---

[1] Mann, S., *Nachwachsende Rohstoffe*, Ulmer Verlag, Stuttgart, **1998**

[2] Waskow, F., *Leitfaden Nachwachsender Rohstoffe*, C. F. Müller Verlag, Heidelberg, **1998**

[3] Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, 5. *Symposium Nachwachsender Rohstoffe - Perspektiven für die Chemie*, Köllen Druck+Verlag GmbH, Bonn, **1997**

[4] Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, *Bericht des BML 5 Jahre Nachwachsende Rohstoffe 1993-1997*, Köllen Druck+Verlag GmbH, Bonn, **1998**

oder als Film zur Veredelung von Oberflächen. Makromoleküle auf der Basis von nachwachsenden Rohstoffen, insbesondere Polysaccharide, haben aufgrund ihrer der guten Umweltverträglichkeit, der biologischen Abbaubarkeit, der Kohlendioxidneutralität (Klimaneutralität) und der physiologischen Verträglichkeit, eine zunehmende Bedeutung und auch einen Vorteil gegenüber synthetischen Polymeren. Ihre Einsatzgebiete sind überall dort, wo unter ökologischen und ökonomischen Aspekten der praktische Nutzen der Abbaubarkeit und Verträglichkeit im Vordergrund steht.

Die Strategie bei der Verwendung von Polysacchariden als Makromolekül ist, die Synthesevorleistung der Natur zu nutzen und durch gezielte Modifikation Produkte mit bestimmten Eigenschaften zu erhalten, die sonst nur aufwendig zu synthetisieren wären. Auch das positive Image und die hohe gesellschaftliche Akzeptanz von nachwachsenden Rohstoffen bzw. Polysacchariden als Rohstoffquelle ist für Produkte der chemischen Industrie von großem Vorteil.

In der Natur werden zirka  $3 \cdot 10^{11}$  t Kohlenstoffverbindungen jährlich produziert. Mit einem Anteil von 95 Prozent an der in der Natur produzierten Biomasse sind die Mono-, Oligo- und Polysaccharide eine wichtige und erneuerbare Rohstoffquelle. Cellulose und Stärke nehmen dabei den Hauptteil der produzierten Polysaccharide ein [5]. Von den ca. 22 Millionen Tonnen Rohstoffen, die in der deutschen chemischen Industrie eingesetzt werden, entfallen nur 1,8 Millionen Tonnen (9%) auf nachwachsende Rohstoffe [6]. Für die Verwendung der nachwachsenden Rohstoffe in der chemischen Industrie ist neben einer ausreichenden Menge auch eine gleich bleibende Qualität und eine ganzjährige Verfügbarkeit die Voraussetzung. Da es sich aber um Naturprodukte handelt und deren Eigenschaften je nach Quelle variieren, ist dies nicht immer gegeben.

Die Eigenschaften von Makromolekülen hängen sehr stark von der Molmasse ab und sind durch eine Änderung im viskosen und elastischen Verhalten ersichtlich [7]. Die genaue Kenntnis, der chemischen und sterischen Mikrostruktur und deren Einflüsse auf die makroskopisch wahrnehmbaren Eigenschaften, erlaubt über gezielte Variation der Struktur

---

[5] Elias, H.-G., *Makromoleküle Band 3 Industrielle Polymere und Synthesen*, 6. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim, **2001**

[6][http://www.chemische-industrie.de/fr\\_showdokument.asp?DokNr=5587&userid=](http://www.chemische-industrie.de/fr_showdokument.asp?DokNr=5587&userid=), Konzeption des Fachausschusses Nachwachsende Rohstoffe - Bedeutung für die Chemie

[7] Kulicke, W.-M., *Fließverhalten von Stoffen und Stoffgemischen*, Hüthig & Wepf Verlag, Heidelberg, **1986**

---

eine Beeinflussung der Eigenschaften und damit eine Optimierung von Produkten oder Anwendungen. Durch gezielte chemische Modifizierung der Polysaccharide ist es dann möglich für spezifische Anwendungen die speziellen und benötigten Eigenschaften zu erhalten oder zu verbessern, wodurch sich ein breiteres Anwendungsgebiet für die Polysaccharide ergibt. Durch ständige Forschung und Entwicklung wird der Anwendungsbereich immer größer und beschränkt sich nicht nur auf Verdickungsmittel und Fließverbesserer für den Lebensmittelbereich.

Ein Beispiel für den Einfluss der Molmassenverteilung auf die Verträglichkeit, ist die Verwendung von modifizierten Polysacchariden in der Medizin. Hierbei kommt das Stärkederivat Hydroxyethylstärke bei starken Blutverlusten (z.B. bei einem Unfall oder einer Operation) als Blutplasmaersatzmittel bzw. Blutplasmaexpander zum Einsatz. Die Kenntnis der Molmassenverteilung ist deshalb so wichtig, weil Moleküle mit einer Molmasse bzw. Teilchengröße unterhalb der Nierenschwelle (ca. 55.000 g/mol) schnell ausgeschieden werden und nicht die pharmakologisch relevanten Eigenschaften besitzen. Moleküle mit hohen Molmassen bzw. großen Teilchengrößen führen zu unerwünschten Unverträglichkeitsreaktionen. Eine Speicherung von Hydroxyethylstärke im Gewebe kann starke und lang anhaltende Juckreize hervorrufen. Außerdem kann es zu anaphylaktischen Schockzuständen kommen, die lebensbedrohlich werden können. Deshalb ist es wichtig, eine genaue Kenntnis über die Molmassen- bzw. Teilchengrößenverteilung zu erlangen, um die problematischen Unverträglichkeitsreaktionen zu minimieren oder ganz zu verhindern. Ein weiterer Ansatzpunkt, der in dieser Arbeit verfolgt wurde, war die Untersuchung von 2-O-Acetylstärken bezüglich der Anwendung als Plasmaersatzmittel.

Aufgrund der großen Anzahl von Anwendungsmöglichkeiten, besteht ein hoher Bedarf an Informationen über die Struktur und Eigenschaften der Polysaccharide. Die Eigenschaften eines Polymers kann durch die Lösungsstruktur, Radien- und Molmassenverteilung und deren Mittelwerte beschrieben werden. Eine etablierte Methode ist eine kombinierte Anlage aus Größenausschlusschromatographie, Vielwinkellaserlichtstreuphotometer und Konzentrationsdetektor. Diese Kombination ermöglicht nicht nur die absolute Bestimmung der gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  und des z-mittleren Gyrationradius  $R_{Gz}$ , sondern auch deren Verteilungen und Verteilungsbreiten ( $M_w/M_n$ ). Zusätzlich kann noch eine Struktur-Eigenschafts-Beziehung ( $R_G$ -M-Beziehung) ermittelt werden, die eine Korrelation zwischen der Molmasse und der Teilchengröße ermöglicht.

## 2 Polysaccharide

Der Begriff Polysaccharide steht für eine Gruppe von ubiquitären Verbindungen, die neben Proteinen und Nukleinsäuren die dritte große Gruppe von Makromolekülen natürlichen Ursprungs darstellen. Die Polysaccharide sind nach der allgemeinen Formel  $C_n(H_2O)_n$  aufgebaut und werden deshalb historisch auch als Kohlenhydrate bezeichnet. Die wichtigsten Grundbausteine der Polysaccharide sind in Tabelle 3 aufgeführt.

*Tabelle 3: Die wichtigsten Grundbausteine der Polysaccharide.*

<i>Gruppe</i>	<i>Monomere</i>
Hexosen	D-Glucose, D-Mannose, D-Galactose, L-Galactose und D-Fructose
Pentosen	L-Arabinose und D-Xylose
6-Desoxyzucker	L-Fucose und L-Rhamnose
Aminozucker	D-Glucosamin und Galactosamin
Uronsäuren	D-Glucoron-, D-Galacturon-, D-Mannuron- und Iduronsäure

Sie erfüllen zahlreiche biologische Funktionen und werden nach ihrer chemischen Struktur in Homo- oder Heteropolysaccharide unterteilt. Homopolysaccharide (z.B. Cellulose, Stärke und Dextran) bestehen nur aus einem Monosaccharidtyp, während Heteropolysaccharide (z.B. Mannane, Pektine und Xylane) aus zwei oder mehreren Monosaccharidtypen bestehen.

In der Funktion unterteilt man die Polysaccharide in Reserve- und Gerüstpolysaccharide. Die Reservepolysaccharide sind die relativ schnell mobilisierbaren Energiereserven der Organismen und werden in Form von Glykogen, Stärke und Dextran gespeichert. Gerüstpolysaccharide dienen als Strukturelemente und bilden die Grundmatrix von Zellwänden (Cellulose) oder das Exogerüst von Gliederfüßern (Chitin).

Man unterscheidet zwischen unverzweigten und verzweigten Polysacchariden. Bei verzweigten können ausgehend von einer Hauptkette mit reduziertem Terminus, kammartige oder baumartige Typen auftreten (siehe Abbildung 1).

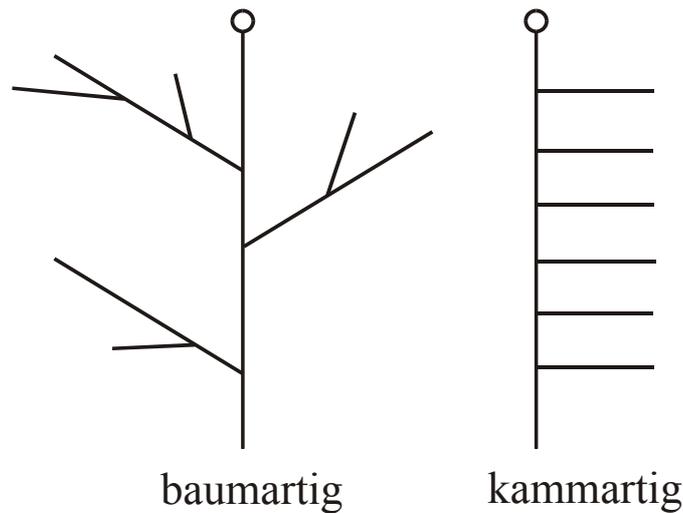


Abbildung 1: Die Verzweigungstypen von Polysacchariden.

Für die Struktur der Polysaccharide ist die Art der glykosidischen Bindung zwischen den Monomerbausteinen wichtig (1,3-, 1,4- oder 1,6-Bindung). Hinzu kommt noch das Diastereomere C<sub>1</sub>-Atom, welches eine Verknüpfung in  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Form eingehen kann. Ein häufiges Monomer der Polysaccharide sind Glucopyranosen, die in Abbildung 2 mit den Variationen der Konfigurations- und Verknüpfungsarten dargestellt sind.

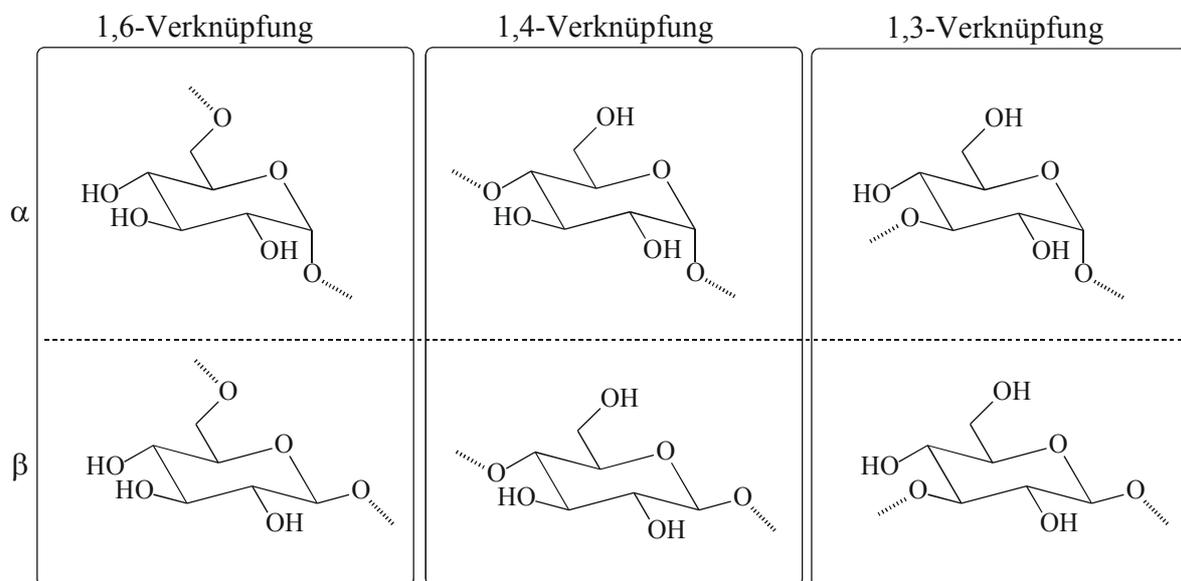


Abbildung 2: Variation der Konfiguration und der Verknüpfungsart bei Glucopyranosen.

Allgemein kann die Aussage gemacht werden, dass Polysaccharide zur Energiespeicherung in der Regel  $\alpha$ -(1-4) und die zur Strukturgebung  $\beta$ -(1-4) verknüpft sind. In Tabelle 4 sind für ausgewählte Polysaccharide die Parameter, wie Monomere, Bindungsarten, Strukturen,

Vorkommen und Funktionen aufgeführt. Diese wurden im Rahmen dieser Arbeit nativ (Pullulan, Dextran) oder derivatisiert (Amylopektin, Cellulose) untersucht. Dabei wurde das Spektrum von linear bis verzweigt bzw. Struktur- und Energiespeicherpolysaccharid mit unterschiedlichen Quellen (Pflanzen, Bakterien und Pilze) gewählt.

Tabelle 4 : Auswahl an verschiedenen Polysacchariden mit Funktion, Vorkommen und Struktur, die im Rahmen dieser Arbeit von Bedeutung sind.

Polysaccharid	Monomer	Bindung	Struktur	Quelle	Funktion/ Vorkommen
Cellulose	D-Glucose	$\beta$ -(1,4)	Linear	Pflanzen	Struktur
Amylopektin	D-Glucose	$\alpha$ -(1,4)	Verzweigt mit $\alpha$ -(1,6)	Pflanzen	Energiespeicher
Dextran	D-Glucose	$\alpha$ -(1,6)	Verzweigt mit $\alpha$ -(1,3)	Bakterien	Stoffwechsel- produkt
Pullulan	D-Glucose	$\alpha$ -(1,4), $\alpha$ -(1,6)	Linear	Pilze	Stoffwechsel- produkt

## 2.1 Stärke und Stärkederivate

Stärke gehört neben der Cellulose zu den wichtigsten Polysacchariden und dient in Pflanzen als Reserve- und Speicherpolysaccharid. Sie wird durch eine enzymatische Polytransglucosidierung aus dem Fotosyntheseprodukt D-Glucose in den Chloroplasten (siehe Abbildung 3) der Pflanzen synthetisiert, wobei die Glucoseeinheiten  $\alpha$ -glykosidisch verknüpft sind [8].

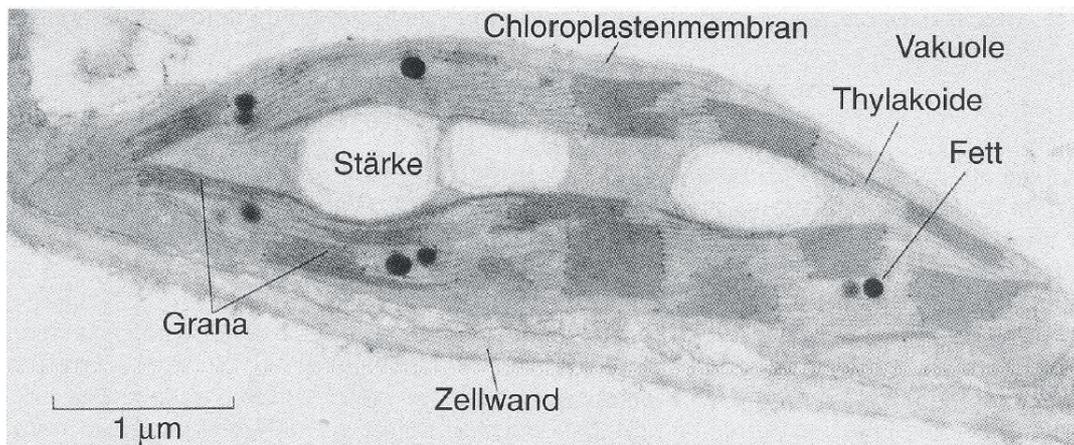


Abbildung 3: Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Chloroplasten, die Stärkekörner sind als helle Körper gut zu erkennen.

In den Speicherorganen der Pflanzen wird Stärke in der Form von Körnern eingelagert. In höheren Konzentrationen befinden sich die Stärkekörner deshalb in den Samenkörnern (Weizen, Mais, Reis, Roggen, Gerste, Hirse, Hafer), in den Knollen oder den Wurzeln (Kartoffeln, Maniok) und in dem Mark (Sagopalme) der Pflanzen [9], die wichtigsten Quellen sind in der Abbildung 4 dargestellt.

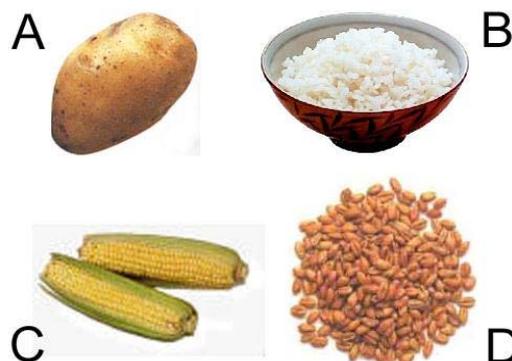


Abbildung 4: Die wichtigsten Stärkequellen mit A) Kartoffel, B) Reis, C) Mais und D) Getreide.

[8] CD Römpp Chemie Lexikon, Thieme Verlag, Stuttgart 1995

[9] Tegge, G., Stärke und Stärkederivate, Behr's Verlag, Hamburg 1984

Die Stärkequellen lassen sich morphologisch unterscheiden [10], [11], [12]. Stärkekörner aus Gerste, Hafer, Reis, Mais, Weizen und Kartoffeln unterscheiden sich in der Größenverteilung, was in der Abbildung 5 für Gerste, Kartoffel, Hafer und Mais dargestellt ist.

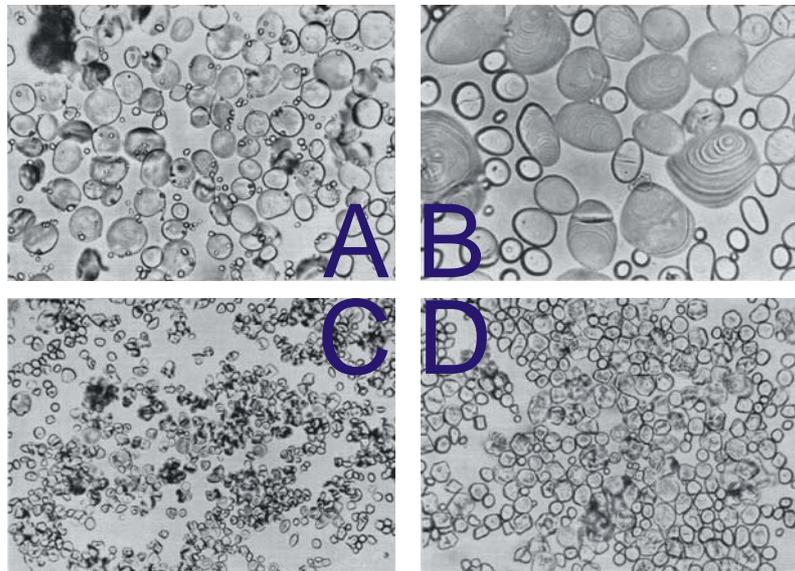


Abbildung 5: Morphologie der Stärkekörner.  
A) Gerstenstärke, B) Kartoffelstärke, C) Haferstärke und  
D) Maisstärke.  $\times 400$  Abbildungen aus [11] entnommen.

Stärke besteht aus den beiden Homopolysacchariden Amylose und Amylopektin, die sich durch ihre Verzweigungsstruktur und Molmasse unterscheiden.

Amylose ist überwiegend linear  $\alpha$ -(1,4)-glykosidisch verknüpft, ein Ausschnitt aus einer Amylosekette ist in Abbildung 6 wiedergegeben. Aufgrund einer freien Hydroxylgruppe am anomeren Kohlenstoffatom besitzt jedes Amylosemolekül ein reduzierendes und ein nicht reduzierendes Ende. Der Polymerisationsgrad bei Getreidestärken liegt zwischen 1000 und 2000, während dieser Kartoffeln bis zu 4500 annehmen kann. Die relative Molmasse der Amylose liegt im Bereich von 150.000 bis 750.000 g/mol. Der Amyloseanteil variiert mit den verschiedenen Stärkequellen. Amylose ist in kaltem Wasser schwer dispergierbar und beim Erhitzen kommt es zur Quellung und zur Ausbildung eines Stärkekleisters.

[10] Vorwerg, W., *Überblick zum Forschungsverbund Modifizierte Stärken der Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e. V.*, **1998**

[11] Seidemann, J., *Stärke-Atlas Grundlagen der Stärke-Mikroskopie und Beschreibung der wichtigsten Stärkearten*, Paul Parey Verlag für Landwirtschaft, Berlin, **1966**

[12] Czaja, A. T., *Die Mikroskopie der Stärkekörner*, Paul Parey Verlag für Landwirtschaft, Berlin, **1969**

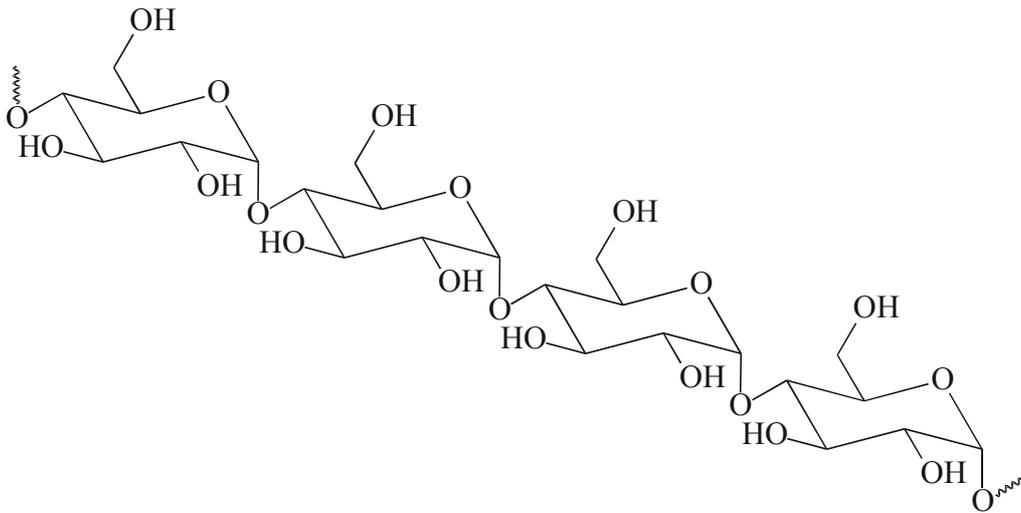


Abbildung 6: Ausschnitt aus einer  $\alpha$ -(1,4)-glykosidisch verknüpften Amylosekette.

Amylopektin besitzt eine statistisch verzweigte Struktur, die nicht nur über  $\alpha$ -(1,4)-glykosidische Bindungen, sondern auch über  $\alpha$ -(1,6)-glykosidische Bindungen verknüpft ist. Ein Ausschnitt aus einer Amylopektinkette mit einer Verzweigung ist in der Abbildung 7 dargestellt. Amylopektin ähnelt dem tierischen Reservepolysaccharid Glykogen, ist aber weniger stark verzweigt. Amylopektin ist in heißem Wasser löslich.

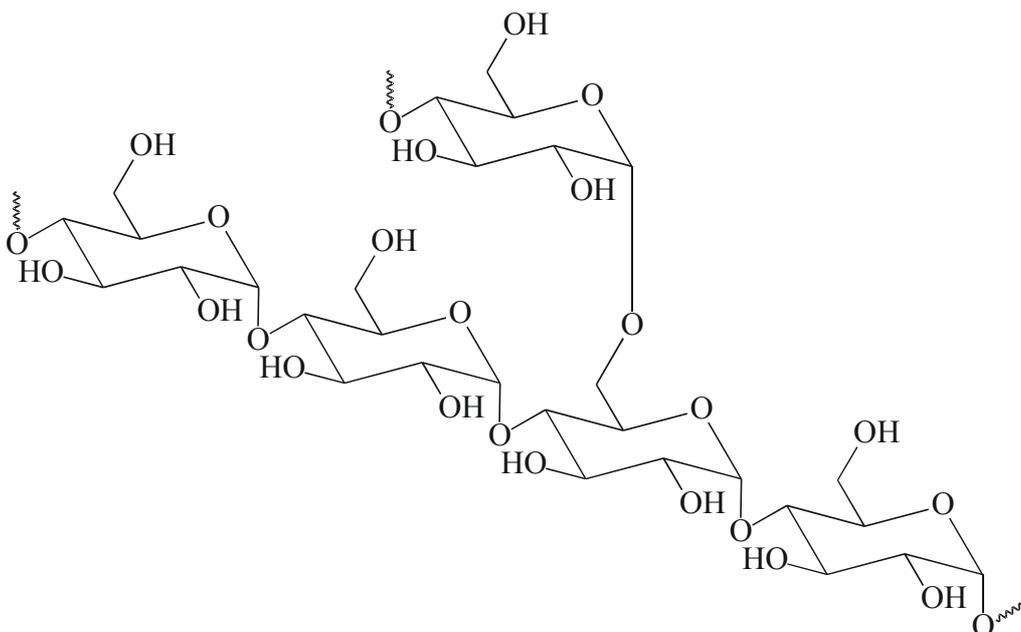


Abbildung 7: Ausschnitt aus eine Amylopektinkette mit  $\alpha$ -(1,4)-glykosidisch verknüpfter Hauptkette und  $\alpha$ -(1,6)-glykosidisch verknüpfter Verzweigung.

Auf jeden Verzweigungspunkt kommen 15 – 30 Glucoseeinheiten. Da jede Verzweigung durch das reduzierende aldehydische Ende der betreffenden Seitenkette begonnen werden kann, sind reduzierende Enden im Amylopektinmolekül nur in sehr geringen Mengen zu erwarten. Die Angaben über die Molmasse des Amylopektins schwanken sehr stark. Es werden Werte zwischen 300.000 und 20.000.000 g/mol angegeben.

Neben den oben angegebenen Anteilen von Amylose und Amylopektin in der Stärke, gibt es auch Stärkearten, bei denen das Verhältnis von Amylose und Amylopektin vollkommen anders ist. So bestehen die so genannten Wachsmaisstärken (waxy corn starch) zu über 99 % aus Amylopektin. Das Verhältnis von Amylose zu Amylopektin ist für verschiedene Stärkequellen in der Tabelle 5 aufgeführt. Der Name Wachs-Mais-Stärke wurde diesen Stärken aufgrund der Textur des Endosperms gegeben, welcher einem harten Wachs ähnlich sieht. Wachsiges Maisstärken als Quelle von nahezu homogener Stärkeart sind von großem, technischen Interesse, da sie andere Eigenschaften besitzen, als Stärken mit gewöhnlichen Amylose/Amylopektin-Gehalten. Ein wichtiges Einsatzgebiet für amylopektinreiche Stärken ist in der Medizin, wo ihre derivatisierten Formen als Blutplasmaersatzmittel eingesetzt werden.

*Tabelle 5: Das Verhältnis von Amylose zu Amylopektin für verschiedene Stärkequellen [13].*

<i>Quelle</i>	<i>Amyloseanteil</i> [%]	<i>Amylopektinanteil</i> [%]
Kartoffeln	23	77
Mais	28	72
Wachsmais	1	99
Reis	18	82
Weizen	26	74
Gerste	22	78
Hafer	27	73

[13] <http://www.foodnews.ch/x-plainmefood/lebensmittel/Staerke.html>

## 2.2 Blutplasmaersatzmittel

### 2.2.1 Grundlagen zu den Blutplasmaersatzmitteln

Um eine normale Kreislauffunktion zu gewährleisten, muss ein ausreichendes Füllvolumen im intravasalen (Gefäß-) System vorhanden sein. Die Abnahme der zirkulierenden Blutmenge verringert den Füllungsdruck des Gefäßsystems und erniedrigt den venösen Rückstrom zum Herzen, was zum Schock und damit zum Tode führen kann. Blutverluste müssen nicht unbedingt durch Bluttransfusionen ausgeglichen werden. Dies wird erst erforderlich, wenn der Verlust ein Drittel des Gesamtvolumens übersteigt bzw. die Hämoglobinkonzentration unter 100 g/l fällt (Normalkonzentration 140 bis 160 g/l) [14]. Die Verabreichung von Vollblut ist aber immer noch die beste Methode, das Blutvolumen zu erhöhen oder aufzufüllen, da sowohl Kolloide, Elektrolyte als auch Immunglobuline, Sauerstofftransportfunktion und Blutgerinnungsfaktoren im richtigen Verhältnis zugeführt werden. Vollblut steht aber nur in begrenzten Mengen zur Verfügung. Probleme bei Vollbluttransfusionen sind die Inkompatibilität der Blutgruppen und die Gefahr der Infektion (z.B. *HIV* oder Hepatitis). Außerdem muss ein hoher technischer Aufwand für die Gewinnung (Testen auf Krankheitserreger), Lagerung und Transport von Vollblut betrieben werden. Für die aus Humanblut gewonnenen, blutgruppenunabhängigen Plasmalösungen (Albumin) gilt die begrenzte Verfügbarkeit und der hohe technische Aufwand in gleicher Weise.

Zur Behandlung des intravasalen (im Gefäß) Volumenmangels werden kristalloide (Kochsalzlösung, Natriumlaktatlösung, Ringerlaktatlösung, Ammoniumchloridlösungen) oder künstliche, kolloidale Plasmaersatzmittel angewendet. Die Vorteile, die die beiden Gruppen von Plasmaersatzmitteln gegenüber Vollblut haben, sind die Verfügbarkeit in großen Mengen, die lange Haltbarkeit und Lagerfähigkeit, die Blutgruppenunabhängigkeit und fehlende Übertragung von Krankheiten. Die Diskussion kristalloide oder kolloidale Blutplasmaersatzmittel wurde ausführlich in der Literatur geführt [15], [16], [17].

---

[14] Mutschler, E., *Arzneimittelwirkungen, Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*, 7. Auflage, Stuttgart, **1997**

[15] Ragaller, M. J. R./ Theilen, H./ Koch, T., *Volume replacement in critically ill patients with acute renal Failure*, in: J. Am. Soc. Nephrol., **2001**, 12, 33-39

[16] van der Sande, F. M./ Luick, A. J./ Kooman, J. P./ Verstappen, V./ Leunissen, M. L., *Effect of Intravenous Fluids on Blood Pressure Course during Hemodialysis in Hypotensive-Prone Patients*, in: J. Am. Soc. Nephrol., **2000**, 11, 550-555

[17] Singer, P./ Kogan, A./ ZolotarSKI, V./ Grozovski, E./ Cohen, J., *Extracellular fluid variations during a fluid challenge – a comparison of normal saline (NS) and hydroxyethyl starch (HES) in stressed patients*, in: Crit. Care, **1999**, 3, 152

### 2.2.2 Entwicklung der Blutplasmaersatzmittel

Die Entwicklung [18] , [19] von erythrozytenfreien Infusionslösungen beginnt mit der Beobachtung von Ernst von Bergmanns im Jahre 1878. Dem nach wird der Verblutungstod nicht durch den Mangel an roten Blutkörperchen, sondern durch das Fehlen von Blutvolumen verursacht.

Kochsalzlösung wurde als erstes Plasmaersatzmittel eingesetzt. So gelang es Herrn Sander 1879 erstmalig stark ausgeblutete Hunde durch Kochsalzinfusionen am Leben zu erhalten. 1881 wurde die erste erfolgreiche Kochsalzinfusion am Menschen von Landerer durchgeführt. In den folgenden eineinhalb Jahrzehnten wurden Erfahrungen mit Kochsalzinfusionen beim Menschen gemacht. Die Infusion von Kochsalzlösung führte zu wässrigen Aufschwemmungen und hochgradigen Schwellungen der Magenwand. Aufgrund dieser Komplikationen mit Kochsalzinfusionen und der Erkenntnis von Starling 1896, dass der kolloidosmotische Druck der Eiweißkörper von entscheidender Bedeutung ist, wurde seither nach einem gut verträglichen Kolloid gesucht.

Mit dem Ausbruch des ersten Weltkriegs 1914 wurden die ersten Blutplasmaersatzmittel entwickelt. Anfänglich wurde Gummiarabikumlösung (Bayliss 1915/ Hurwitz 1915) oder Gelatine (Hogan 1915) verwendet, die sich aufgrund von Nebenwirkungen nicht dauerhaft behaupten konnten. Die Nebenwirkungen waren sehr oft auf verunreinigte Rohstoffe zurückzuführen, da diese nicht frei von unlöslichen Fraktionen oder Krankheitserregern waren. Zusätzlich war die Handhabung von Gelatinepräparaten aufgrund eines hohen Gelierungspunkts um die 30°C umständlich. Die Speicherung von Gummiarabikum in der Leber führte zu einer stark verminderten Produktion von Bluteiweißkörpern, was zu einem Abfall des Plasmaproteingehaltes und zu Gerinnungsstörungen führte. Im ersten Weltkrieg wurden sowohl auf deutscher (Liesegang) als auch auf amerikanischer Seite (Hurwitz) Gummiarabikumlösungen eingesetzt. Zwischen den beiden Weltkriegen war das Interesse und die Nachfrage nach Plasmaersatzmitteln nur gering. An Stelle von Gummiarabikum experimentierte Braun 1937 mit Polyvinylalkohol, was aber in Vergessenheit geriet.

Mit dem Ausbruch des zweiten Weltkrieges erwachte das Interesse an Plasmaersatzmitteln wieder. Neben Plasma- und Serumkonserven aus Humanblut (Lang) wurde auch mit tierischen Seren (Lenggenhager, Edwards, Lewis, Keys, Taylor, Savage) experimentiert. Diese fanden aber nie klinische Anwendungen. Im Krieg wurde Polyvinylpyrrolidon *PVP*, auch

---

[18] Lutz, H., *Plasmaersatzmittel*, 4. Auflage, Stuttgart, **1986**

[19] Erhart, G., Ruschig, H., *Arzneimittel*, 1. Auflage, Verlag Chemie, Weinheim, **1968**

unter den Namen Kollidon oder Periston bekannt, (Reppe, Weese und Hecht) verwendet (die Strukturformel von Poly(1-vinyl-2-pyrrolidon) ist in Abbildung 8 dargestellt.). Es verlor nach dem Krieg an Bedeutung, da es vom Körper nicht metabolisiert werden konnte und Moleküle mit zu hohen Molmassen (für PVP ca. 30.000 g/mol), die nicht nierengängig waren, eingelagert wurden.

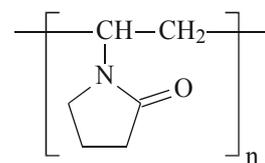


Abbildung 8: Poly(1-vinyl-2-pyrrolidon).

Von Grönwall und Ingelman wurden ab 1942 Dextraninfusionslösungen entwickelt. Diese zeigten jedoch allergische Reaktionen (Antigenizität) und eine gelegentlich auftretende Störung der Blutgerinnung. Nach dem der Reinheitsgrad von Gelatine verbessert und das Eigenschaftsprofil durch chemische Modifikation (Campbell, Tourtelotte, Schmidthome) erweitert worden war, hat man auch Gelatine wieder zur Herstellung von Plasmaersatzmitteln eingesetzt. Aber auch die hoch reine Gelatine und die chemisch modifizierten Gelatinederivate können zu anaphylaktischen Reaktionen führen, so zeigten Gelatine und einige der Derivate eine Antigenizität [20].

Nach dem zweiten Weltkrieg, Ende der fünfziger Jahre, wurde mit den Stärkederivaten Ethylstärke (Wiedersheim) und Hydroxyethylstärke (Thompson, Walton) experimentiert. Nach weiteren klinischen Untersuchungen wurden Hydroxyethylstärkelösungen 1973 in den USA und in Japan und 1974 in der Bundesrepublik Deutschland freigegeben. Heute werden künstliche kolloidale Plasmaersatzmittel angewendet. Es sind Lösungen von polymeren Substanzen in blutisotonischen Elektrolytlösungen. Diese übernehmen keine Funktionen des Blutes, sondern dienen nur der Volumenauffüllung, um den Gefäßdruck für einen funktionierenden Blutkreislauf aufrecht zu erhalten.

Bei kolloidalen Plasmaersatzmitteln werden dem Blutkreislauf Kolloide hinzugefügt, wobei über die Konzentration der Kolloide der Volumeneffekt variiert werden kann. Wenn der kolloidosmotische Druck  $\pi$  im Gefäß und im Gewebe gleich ist ( $\pi_1 = \pi_2$ ), ist ein 100%iger Volumeneffekt erreicht. Die injizierte Flüssigkeitsmenge verbleibt in der Blutbahn. Wenn der kolloidosmotische Druck im Gefäß höher ist als im umgebenden Gewebe ( $\pi_1 > \pi_2$ ), so strömt Wasser ins Blutgefäß ein. Dies ist schematisch in der Abbildung 9 dargestellt. Durch diesen Effekt wird ein Volumeneffekt von über 100% erhalten (Blutplasmaexpander).

[20] Lundsgaard-Hansen, P., Lenggenhager, K., *Nebenwirkungen bei Plasmaersatzmitteln*, in: Praxis, **1969**, 4, 103-108

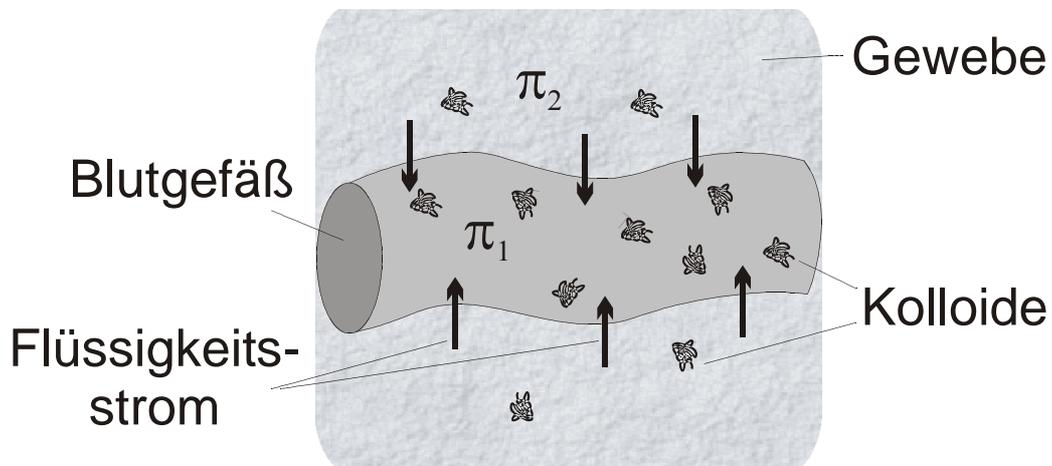


Abbildung 9: Schematische Darstellung der Wirkungsweise eines Blutplasmaexpanders. Aufgrund der kolloidalen Infusion liegt ein höherer kolloidosmotischer Druck im Blutgefäß gegenüber dem Gewebe ( $\pi_1 > \pi_2$ ) vor und Flüssigkeit aus dem Gewebe strömt ins Blutgefäß.

### 2.2.3 Aktuell verwendete Blutplasmaersatzmittel

Unter den drei erhältlichen Gruppen der künstlichen Kolloide (Dextran, Gelatine und Hydroxyethylstärke) ist Hydroxyethylstärke *HES* das in Deutschland am meisten verwendete Blutplasmaersatzmittel [21]. In der Tabelle 6 sind die eingesetzten Blutplasmaersatzmittel für die beiden Jahre 1986 und 1996 mit den Einheiten und dem prozentualen Anteil aufgeführt. Im Jahr 1986 sind die Einheiten von Dextran und Hydroxyethylstärke fast gleich. 10 Jahre später verschiebt sich der prozentuale Anteil zugunsten der Hydroxyethylstärke.

Tabelle 6: Marktanteile der Plasmaersatzmittel in Deutschland (West) 1986 und 1996 [22].

<i>Plasmaersatzmittel</i>	<i>Einheiten (1986)</i>	<i>Anteil [%]</i>	<i>Einheiten (1996)</i>	<i>Anteil [%]</i>
Hydroxyethylstärke	1.448.000	45	2.917.300	81
Gelatine	345.700	11	597.900	17
Dextran	1.415.700	44	88.500	2
Gesamteinheiten	3.209.400	100	3.603.700	100

[21] Dietrich, H.-J., *Kolloide in der Intensivmedizin*, in: *Anaesthesist*, **2001**, 50, 54-68

[22] Heins, D., *Charakterisierung von Stärkederivaten mittels Größenausschlusschromatographie, Fluss-Feldfluss-Fraktionierung und Lichtstreuung*, Dissertation Universität Hamburg, **2000**, 11

## 2.2.4 Blutplasmaersatzmittel Hydroxyethylstärke

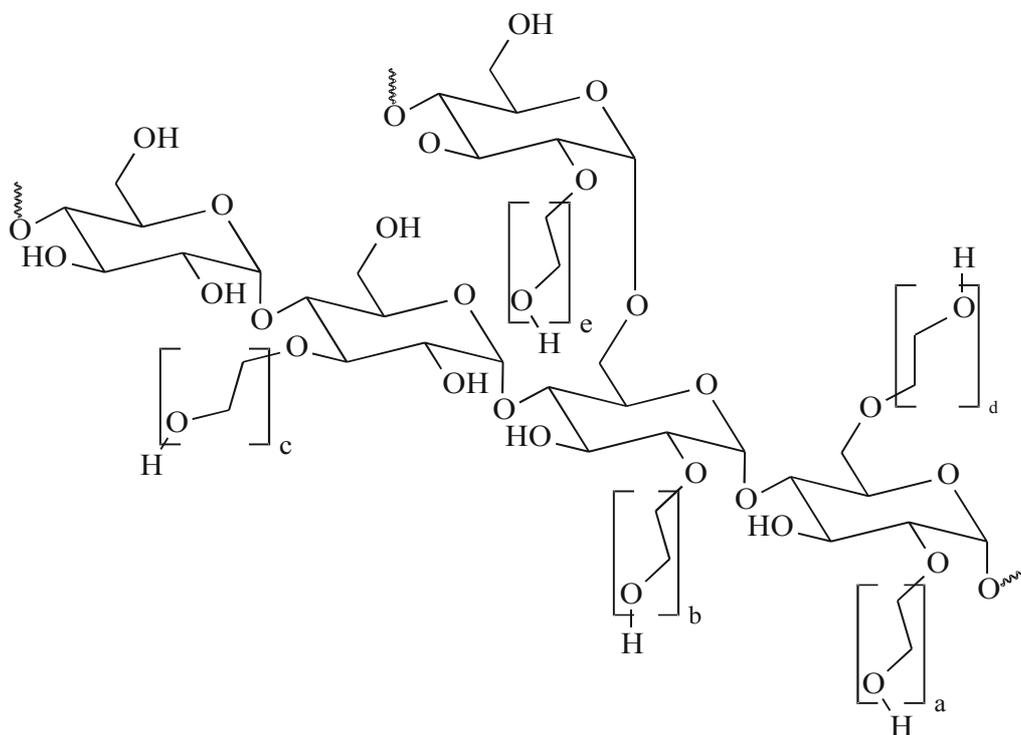


Abbildung 10: Ausschnitt aus einer Hydroxyethylstärkekette mit Verzweigung.

Hydroxyethylstärke *HES* ist ein Etherderivat vom Amylopektin und wird aus amylopektinreichen Stärken (z.B. Wachsmaisstärke *WMS*, Amylopektingehalt >99%) hergestellt. Man unterscheidet bei *HES* zwischen nieder- (70.000 g/mol und 130.000 g/mol), mittel- (200.000 g/mol) und hochmolekularer (450.000 g/mol) Hydroxyethylstärke *HES*. Auch bei dem Substitutionsgrad unterscheidet man zwischen zwei Klassen. Den niedrig substituierten Hydroxyethylstärken mit einem *DS* von 0,4 bis 0,5 und den hochsubstituierten Hydroxyethylstärken mit einem *DS* von 0,6 bis 0,7. Die positiven Eigenschaften von *HES* liegen einerseits an den strukturellen Ähnlichkeiten mit dem körpereigenen Glykogen und andererseits an der hohen chemischen und physikalischen Stabilität, die sich in einer hohen Haltbarkeit und Lagerstabilität auch bei unterschiedlichen Temperaturen (-20°C bis 60°C) auszeichnet [23]. Im Gegensatz zu Dextranen oder Gelatine ist der Volumeneffekt und die Verweildauer bei *HES* nicht nur durch die Konzentration und die Molmassenverteilung bestimmt, sondern kann über den durchschnittlichen Substitutionsgrad und das Substitutionsmuster variiert werden. Damit ist die Hydroxyethylstärke das variabelste kolloidale Plasmaersatzmittel.

[23] Eigner, W.-D., *Hydroxyethylstärke – Molmassenbestimmung von Hydroxyethylstärke in Elektrolytlösung nach Temperaturbelastung*, in: Krankenhauspharmazie, **1988**, 9 (1), 20-22

### 2.2.4.1 Mikrozirkulationsverbesserung durch Hydroxyethylstärke

Eine positive Eigenschaft von HES-Lösung ist die Verbesserung der Mikrozirkulation des Blutes und die daraus resultierende Steigerung der Sauerstoffversorgung der Kleinstgefäße (Endstrombahn).

Das Hagen-Poiseuille'sche-Gesetz für die Strömung durch „starre Röhren“ ist mit Einschränkung auch auf Blutgefäße anwendbar.

$$v = \frac{\Delta p \cdot \pi}{8 \cdot l \cdot \eta} \cdot r^4$$

Gleichung 1

v = Stromzeitvolumen

$\Delta p$  = Druckgradient

r = Gefäßradius

l = Gefäßlänge

$\eta$  = Vollblutviskosität

Aus der Gleichung 1 ist ersichtlich, dass eine Durchblutungsverbesserung nur durch

- Vergrößerung des Gefäßradius,
- Erhöhung des Drucks oder
- Verringerung der Blutviskosität

erreicht werden kann. Der generelle Volumenersatz mit Kolloiden ist als eine erzwungene Blutverdünnung anzusehen, die mit einer Verbesserung der Blutfließfähigkeit, also einer Senkung der Vollblutviskosität, einhergeht. Die bei kolloidalen Blutplasmaexpandern erzielbare Steigerung des Drucks durch Volumenzufuhr bringt nur dann einen Versorgungsvorteil, wenn die Sauerstoffzufuhr trotz abnehmender Erythrozytenkonzentration gesteigert wird. Bei HES-Lösung kann innerhalb bestimmter Konzentrationen die Abnahme der Erythrozyten durch deren beschleunigte Zirkulation überkompensiert werden [18]. Kleinere HES-Moleküle beeinflussen die hämorheologischen Parameter günstiger als große (HES 70 ist besser als HES 450) [24]. Die Verbesserung der Versorgung des Gewebes mit Sauerstoff durch HES-Lösung konnte von Jung et al. 1988 [25], Ehrly 1988 [26], Lang et al.

[18] Lutz, H., *Plasmaersatzmittel*, 4. Auflage, Stuttgart, **1986**

[24] Treib, J., Grauer, T., Haas, A., *Efficacy of plasma substitutes for a volume therapy*, in: *Volume Therapy*, Berlin, Springer Verlag, **1999**, 78-122

[25] Jung, F., Waldhausen, P., Spitzer, S., Mrowietz, C., Häuser, B., Wenzel, E., *Hämorheologische, mikro- und makrozirkulatorische Effekte einer hypovolämischen Hämodilution mit mittelmolekularer Hydroxyäthylstärke (HAES 200/0,62; 6%)*, in: *Infusionstherapie*, **1988**, 15, 265-271

[26] Ehrly, A. M., *Gewebesauerstoffdruck und Blut-Fließeigenschaften bei Patienten mit Claudicatio intermittens nach Infusion verschiedener Plasmaersatzstoffe*, in: *Hämorheologie und operative Medizin*, München, Münchner Wissenschaftliche Publikationen, **1988**, 152-158

2001 [27] und Schroeder et al. 2000 [28] über einen erhöhten Sauerstoffpartialdruck im Muskelgewebe nachgewiesen werden. Dies wird auch immer noch im Ausdauersport (Laufen [29], Skilanglauf [30]) ausgenutzt, weshalb HES seit Januar 2000 [31] auf der Dopingliste der verbotenen Substanzen steht. Dies führte dazu, dass HES-Lösung nicht nur zur reinen Volumentherapie eingesetzt wird, sondern auch zur Behebung von Durchblutungsstörungen (z.B. im Ohr [32]).

#### 2.2.4.2 Elimination von Hydroxyethylstärke im Organismus

Die Hydroxyethylstärke ist das künstliche Kolloid mit der geringsten Nebenwirkungsrate (im Vergleich zu Dextran und Gelatine) [21]. Aber auch die Hydroxyethylstärke ist nicht frei von Unverträglichkeitsreaktionen, was im Folgenden dargestellt werden soll.

Die Elimination der Hydroxyethylstärke erfolgt in zwei Phasen. Die Moleküle mit einer Molmasse bzw. Teilchengröße unterhalb der Nierenschwelle (ca. 55.000 Da [21]) werden schnell ausgeschieden. Die Moleküle mit einer Molmasse bzw. Teilchengröße oberhalb der Nierenschwelle werden durch Serumamylasen degradiert, und bei Nierengängigkeit ebenfalls ausgeschieden. Bei der Degradation der Hydroxyethylstärke ist der Substitutionsgrad und das Substitutionsmuster ( $C_2 > C_6 > C_3$ ) entscheidend. Eine Erhöhung des Substitutionsgrades bewirkt einen langsameren Abbau und damit eine höhere Verweilzeit. Durch eine erhöhte oder spezifische Substitution in 2-Position wird dies noch verstärkt [33] (siehe Abbildung 11).

---

[27] Lang, K., Boldt, J., Suttner, S., Haisch, G., *Colloids versus crystalloids and tissue oxygen tension in patients undergoing major abdominal surgery*, in: *Anesth. Analg.*, **2001**, 93, 405-409

[28] Schroeder, F., Standl, T. G., Nierhaus, A., Burmeister, M. A., Schulte am Esch, J., *Tissue oxygenation during acute normovolemic hemodilution with a newly designed hydroxyethyl starch solution in volunteers*, in: *Anesthesiology*, **2000**, 93 (3A), P203

[29] Artikel : *Der große Schwindel*, in : *Morgenpost*, **4/12/1998**, 50

[30] World Anti-Doping Agency, *Out-Of-Competition Testing Program Report*, **08.02.2002**

[31] Thevis, M., Opfermann, G., Schänzer, W., *Nachweis des Plasmavolumenexpanders Hydroxyethylstärke in Humanurin*, in: *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin*, **2001**, 52

[32] Streppel, M., Wittekindt, C., v. Wedel, H., Walger, M., Eckel, H. E., Michel, O., Stennert, E., *Zur Therapie der progressiven kindlichen Schwerhörigkeit mit einem antiphlogistisch-rheologischen Infusionsschema*, in: *Monatsschrift Kinderheilkunde*, **2002**, 3, 310-315

[21] Dietrich, H.-J., *Kolloide in der Intensivmedizin*, in: *Anaesthesist*, **2001**, 50, 54-68

[33] Pöhlmann, R., *Hydroxyethylstärke Chemische Charakterisierung und Pharmakokinetik*, in: *Krankenhauspharmazie*, **1991**, 12(11), 496-498

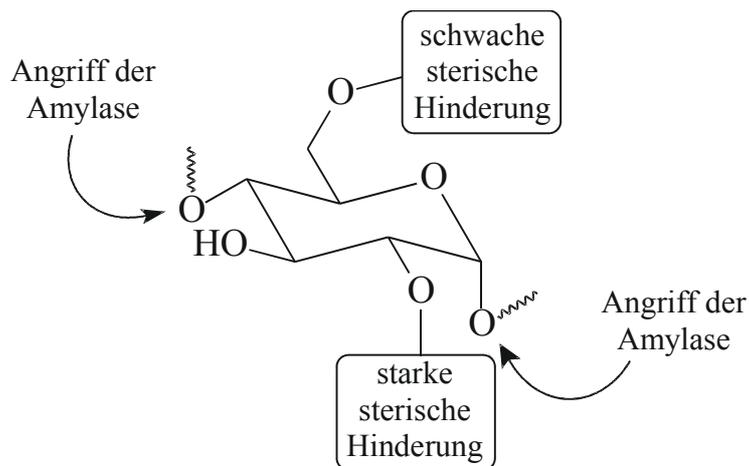


Abbildung 11: Einfluss der Substitution auf den Abbau durch  $\alpha$ -Amylase.

Die Ausscheidung von HES erfolgt fast ausschließlich über die Niere. Ein geringer Anteil von ca. 2 bis 3 Prozent wird in andere Gewebe umverteilt (Einlagerung in der Haut, Leber, Lunge und Milz). Dies konnte sowohl bei Tieren (Ratten [34], [35], [36], Hunden [36] und Schweinen [36]) als auch beim Menschen beobachtet werden.

Von Sirtl et al. [37] wurde eine Langzeitstudie über HES-Einlagerungen mit 26 Patienten über 7 Jahre durchgeführt, wobei Hauteinlagerungen bis zu 54 Monaten und Lebereinlagerungen bis zu 15 Monaten gefunden wurden. In der Abbildung 12 ist die Einlagerung von Hydroxyethylstärke in der Haut abgebildet. Von Jurecka et al. [38] wurde auch von einer Speicherung in der Haut über Jahre diskutiert und in der Leber beim Menschen von mindestens 4 Wochen nachgewiesen. Eine sehr unangenehme Unverträglichkeitsreaktion sind starke und lang anhaltende Juckreize, die einen Großteil des Körpers betreffen können (Rücken, Nacken, Füße Hände, Brust und Bauchbereich). Der Juckreiz hält durchschnittlich 1

[34] Bepperling, F., Opitz, J., Leuschner, J., *HES 130/0.4, a new HES specification: tissue storage after multiple infusions in rats*, in: Crit. Care, **1999**, 3, 153

[35] Asskali, F., Wind, St., Moundrianakis, J., Förster, H., *Hochdosierte Infusion von Volumenersatzmittel (Hydroxyethylstärke, Acetylstärke, Gelatinederivat versus Ringerlactat) im Tierversuch*, in: Anaesthesist, **1994**, Suppl. 1, 43, 260

[36] Asskali, F., Förster, H., *Acetyl-Stärke, Volumenersatz der Zukunft?*, in: Anaesthesist, **1994**, Suppl. 1, 43, 11

[37] Sirtl, C., Laubenthal, H., Zumtobel, V., Kraft, D., Jurecka, W., *Tissue deposits of hydroxyethyl starch (HES) – dose-dependent and time-related*, in: British Journal of Anaesthesia, **1999**, 82,4, 510-515

[38] Ginz, H. F., Gottschall, V., Schwarzkopf, G., Walter, K., *Exzessive Gewebespeicherung von Kolloiden im retikuloendothelialen System*, in: Anaesthesist, **1998**, 47, 330-334

bis 12 Wochen und in Extremfällen sogar über 9 Monate an [39]. Bei der Behandlung des durch die Hydroxyethylstärke verursachten Hautjuckens haben sich die üblicherweise verwendeten Medikamente gegen Juckreiz als unwirksam erwiesen haben (Salben und Tabletten mit Cortison oder Hemmstoffen des Gewebehormons Histamin). Eine Besserung lies sich lediglich mit lokalen Betäubungsmitteln erreichen [40].

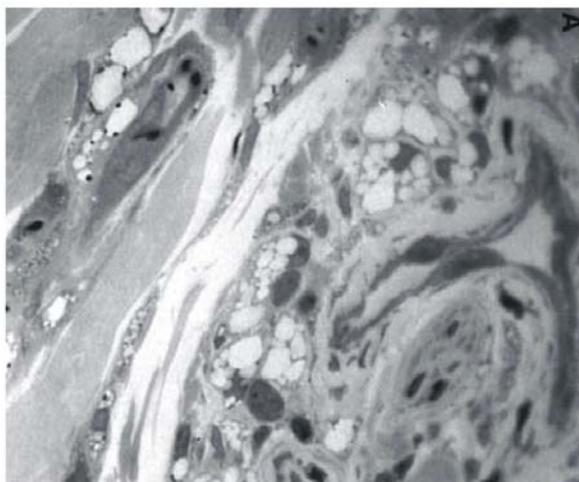


Abbildung 12: Abbildung der Vakuolen (erkennbar als helle Flecken), sechs Monate nach der letzten HES200/0.5-Infusion, die durch die Einlagerungen von Hydroxyethylstärke in der Haut entstanden sind (x420). Entnommen aus [37].

Die Aufnahme und Speicherung der Hydroxyethylstärke erfolgt vorwiegend in Zellen des mononukleären phagozytierenden Systems (*MPS*, früher auch als retikuloendotheliales System *RES* bezeichnet). Das *MPS* ist ein immunkörperbildendes System, zu dem Zellen der Milz, der Lymphknoten, der Leber u. a. gehören. Die Speicherung führt zu einer morphologischen Veränderung, die in Gewebsschnitten beobachtet wurde. Die funktionelle Bedeutung dieser morphologischen Veränderungen ist noch nicht geklärt. Bisher wurde eine Beeinträchtigung des Immunsystems und auch Organfehlfunktionen diskutiert [41], [42]. Es

---

[39] Morgan, P. W., Berridge, J. C., *Giving lon-persistent starch as volume replacement can cause pruritus after cardiac surgery*, in: British Journal of Anaesthesia, **2000**, 85, 696-699

[40] <http://www.deutsche-gefaessliga.de/kurznotiert.shtml>

[41] Jurecka, W., *Befunde zur Speicherung künstlicher Kolloide beim Menschen*, in: Anästhesiol Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther., **1998**, 33, 264-265

[42] Cittanova, M. L., LeBlanc, I., Legendre, C., Mouquet, C., Riou, B., Coriat, P., *Effects of hydroxyethyl starch in brain-dead kidney donors on renal function in kidney-transplant recipients*, in: Lancet, **1996**, 348, 1620-1622

wurden 34 Fälle von Nierenversagen unter der Therapie mit *HES* dokumentiert [43], von denen die meisten auf Anwendungsfehler zurückzuführen sind. Hydroxyethylstärke hat auch einen Einfluss auf das plasmatische Gerinnungssystem, wodurch das Risiko von Blutungen aufgrund einer Verminderung der Blutgerinnung steigt. Der Einfluss ist aber nur bei hochmolekularer und hochsubstituierter *HES* (450.000/0.7) vorhanden. Die nieder- und mittelmolekularen *HES*-Präparate sind im Hinblick auf eine Gerinnungsveränderung weitgehend unbedenklich [44].

---

[43] Ehrly, A.M., Hörl, W. H., Schmitz, J. E., Staedt, U., *Stellungnahme zu der Bekanntgabe der Arzneimittelkommission der Deutschen Ärzteschaft: Nochmals: „Vorsicht bei Hämodilutionstherapie mit Hydroxyethylstärke (HES)“*, in: Dtsch. Ärztebl., **1993**, 90, B-2425

[44] Boldt, J., *Volumenersatz beim schwerkranken Intensivpatienten*, in: Anaesthesist, **1998**, 47, 778-785

### 2.2.4.3 Acetylstärke als alternatives Blutplasmaersatzmittel

Die Überlegung Acetylstärke AS als Blutplasmaersatzmittel einzusetzen geht von dem theoretisch vollständigen Abbau im Organismus innerhalb kurzer Zeit aus. Die Acetylstärke soll die gleichen positiven Eigenschaften besitzen, die auch die Hydroxyethylstärke aufweist. Die negativen Eigenschaften, wie auftretende anaphylaktische Reaktionen und Ablagerungen im Organismus, sollen durch den Acetylsubstituenten unterbunden werden [45]. Analog zur Hydroxyethylstärke liegt ein verzweigtes substituiertes Amylopektinbackbone vor, was eine strukturelle Ähnlichkeit mit dem körpereigenen Glykogen hat. Dieses ist jedoch über eine Ester- und nicht über eine Etherfunktion substituiert. Im Körper können Ester leicht durch Esterasen gespalten und metabolisiert werden. Die dabei entstehende Stärke wird durch  $\alpha$ -Amylasen abgebaut. Somit entstehen keine körperfremden Metabolite, sondern nur die Stoffwechselprodukte Glucose und Acetat [46]. Die Metabolisierung von Acetylstärke zu Acetat hat auch nach wiederholter Infusion keine negativen Auswirkungen auf den Säure-Base-Haushalt [47] des Organismus gezeigt und ist im Vergleich zur Hydroxyethylstärke nach Applikationen nur in Spuren im Gewebe der Niere, Lunge, Leber und Herz nachzuweisen [36]. Die Acetylstärkelösungen sind in ihrer Volumenwirksamkeit denen entsprechender Hydroxyethylstärke-Lösungen vergleichbar, was Versuche am Tier und Mensch zeigten [47], [48], [35], [49]. Die Untersuchung von besonders selektiv substituierten 2-O-Acetylstärken im Hinblick auf die Molmassen sowie deren Verteilungen und die Lagerstabilität in Lösung sind deshalb von großem Interesse und sollen im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt werden.

---

[45] Förster, H., Asskali, F., Nitsch, E., „Metabolisierbarer Plasmaersatz“, Offenlegungsschrift DE 41 22 999 A 1, **14.1.1993**.

[46] Förster, H., *Einführung: Hydrokolloide im Vergleich mit Albumin*, in: Anaesthesist, **1994**, 43 (Suppl. 1), 9.

[47] Asskali, F., Warnken, U., Förster, H., *Acetylstärke als Volumenersatz, eine mögliche Alternative zu HES*, in: Dtsch. Med. Wschr., **2001**, 126, 1.

[36] Asskali, F., Förster, H., *Acetyl-Stärke, Volumenersatz der Zukunft ?*, in: Anaesthesist, **1994**, 43, Suppl. 1, 11

[48] Asskali, F., Wind, S., Moudrianakis, J., Förster, H., *Endotoxinclearance und Phagozytoseaktivität nach hochdosierter Infusion von Volumenersatzmittel (Hydroxyethylstärke, Acetylstärke, Gelatinederivat versus Ringerlactat) im Tierversuch*, in: Anaesthesist, **1994**, 43 (Suppl. 1), 227

[35] F. Asskali, S. Wind, J. Moudrianakis, H. Förster; *Hochdosierte Infusion von Volumenersatzmittel Hydroxyethylstärke, Acetylstärke, Gelatinederivat versus Ringerlactat-Lösung im Tierversuch*, in: Anaesthesist, **1994**, 43 (Suppl. 1), 260.

[49] Meier, B., Asskali, F., Abasi, Z. M., Förster, H., *Intraoperative Blutvolumenbestimmung mit Hydroxyethylstärke. – Eine einfache und schnelle Methode zur Erfassung von Blutverlusten*, in: Anaesthesist, **1994**, 43 (Suppl. 1), 230

### 2.3 Cellulose und Cellulosederivate

Das Hauptprodukt pflanzlicher Biosynthese ist die Cellulose [50], [51], [52], die ein sehr einheitliches Molekül darstellt. Sie besteht aus D-Glucose, die  $\beta(1\rightarrow4)$ -glucopyranosidisch verknüpft ist und bildet den Hauptbestandteil der Gerüstsubstanz pflanzlicher Zellwände.

Die elementare Wiederholungseinheit ist die Cellobiose. Die Anhydroglucoseeinheit *AGU* nimmt hier die  $^4C_1$ -Sesselform ein und stellt, aufgrund der vollständig äquatorialen Stellung aller O-Atome, die energetisch günstigste Konformation dar. Das Molekül ist kettenförmig, unverzweigt und durch intramolekulare Wasserstoff-Brückenbindung zwischen den 3-Hydroxy-Gruppen und den Ringsauerstoff-Atomen benachbarter Glucoseeinheiten in der freien Drehbarkeit der glykosidischen Bindung gehindert. Das führt zu einer linearen Stabilisierung mit annähernd gleicher Ausrichtung aller Glucoseeinheiten in einer Fläche. Durch intermolekulare Wasserstoff-Brückenbindungen zwischen den 6-Hydroxy-Gruppen und dem Sauerstoff der Glycosidbindung kommt es zur Ausbildung von Mikrofibrillen und Faserstrukturen bei parallelen Celluloseketten (z.B. im Holz).

Cellulose ist ein Polyalkohol und besitzt in jeder Glucopyranoseeinheit an der Position  $C_6$  eine primäre Hydroxygruppe und an den Positionen  $C_2$  und  $C_3$  eine sekundäre Hydroxygruppe (siehe Abbildung 2), die Substitutionsreaktionen eingehen können. Durch Modifizierung der Hydroxygruppen wird die Cellulose in wasserlösliche Verbindungen überführt. Die Wasserlöslichkeit der Cellulosederivate ist abhängig von der Art und Anzahl der eingeführten Substituenten. Es gibt die beiden Gruppen der Celluloseester und der Celluloseether. Ein Ausschnitt aus der allgemeinen Struktur der Cellulosederivate ist in der Abbildung 13 und eine Auswahl der verschiedenen Reste sind in der Tabelle 7 wiedergegeben.

Bei der wasserunlöslichen Cellulose resultiert aus der Derivatisierung ein Aufbrechen der intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen. Die so erhaltenen Celluloseether und -ester sind je nach Grad und Ort der Substitution wasserlöslich und finden vielfältige technische Anwendungen.

---

[50] Eisenbrand, G., Schreier, P., *Römpp Lexikon Lebensmittelchemie*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1995**, 168-170

[51] Fugmann, B., *Römpp-Lexikon Naturstoffe*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1997**, 118-119

[52] Jakubke, H.-D., Jeschkeit, H., *Brockhaus Chemie Band 1 und 2*, VEB F. A. Brockhaus Verlag, Leipzig, **1987**

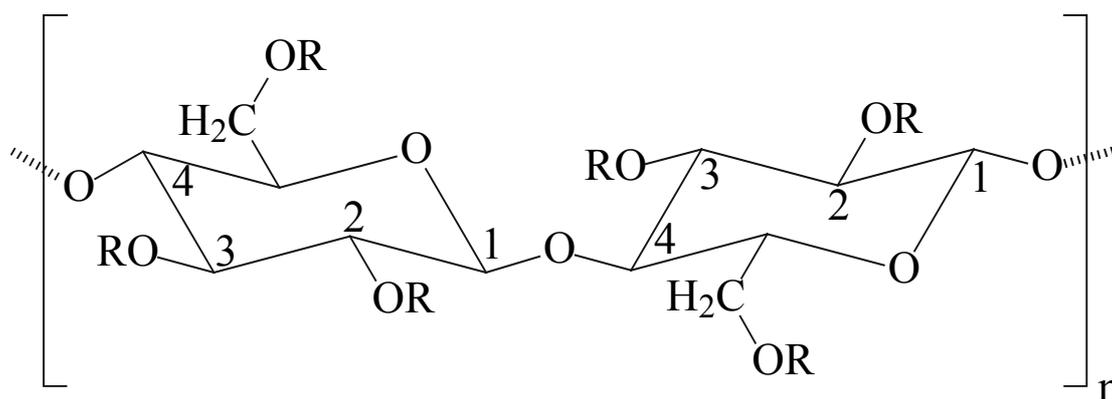


Abbildung 13: Ausschnitt aus der allgemeinen Struktur einer Cellulosekette ( $R = H$ ) bzw. von Cellulosederivaten (Rest  $R$  siehe Tabelle 7).

Tabelle 7: Tabelle mit dem Rest  $R$  für die zwei Cellulosederivatgruppen der Ester und Ether.

Ester	Celluloseacetat (Acetylcellulose) <i>CA</i>	Cellulose- acetobutyrat <i>CAB</i>	Cellulose- acetopropionat <i>CAP</i>	Cellulosepropionat <i>CP</i>
Rest (R)	$-\text{COCH}_3, -\text{H}$	$-\text{COCH}_3, -\text{COC}_3\text{H}_7, -\text{H}$	$-\text{COCH}_3, -\text{COC}_2\text{H}_5, -\text{H}$	$-\text{COC}_2\text{H}_5, -\text{H}$
Ether	Carboxymethyl- cellulose <i>CMC</i>	Methylcellulose <i>MC</i>	Hydroxyethyl- cellulose <i>HEC</i>	Methylhydroxyethyl- cellulose <i>MHEC</i>
Rest (R)	$-\text{CH}_2\text{COONa}, -\text{H}$	$-\text{CH}_3, -\text{H}$	$(-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-\text{H}, -\text{H}$	$-\text{CH}_3, (-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-\text{H}, -\text{H}$

Zur Charakterisierung der Cellulosederivate sind die Art der Substituenten sowie ihre Verteilung entlang der Polymerkette wichtig. Die Substituenten können nur an den drei Hydroxygruppen ( $C_2, C_3, C_6$ ) jeder Anhydroglucoseeinheit eingeführt werden. Der durchschnittliche Substitutionsgrad  $DS$  ist ein Maß dafür, wie viele Hydroxygruppen im Durchschnitt pro Anhydroglucoseeinheit substituiert sind. Der  $DS$  kann maximal den Wert von drei annehmen. Der partielle Substitutionsgrad  $x_i$  ( $i = 2, 3$  oder  $6$ ) unterscheidet zwischen den einzelnen Positionen der Substitution. Die Summe der partiellen Substitutionsgrade ( $x_2+x_3+x_6$ ) ergibt den durchschnittlichen Substitutionsgrad  $DS$ .

Bei einer Hydroxyalkylierung besitzt der eingeführte Substituent selbst eine reaktive

Hydroxygruppe, die für weitere Substitutionsschritte zur Verfügung steht. Aus diesem Grund wird zur Beschreibung der Struktur zusätzlich der molare Substitutionsgrad *MS* herangezogen. Er beschreibt die mittlere Anzahl der Substituenten pro Anhydroglucoseeinheit und kann deshalb Werte über drei annehmen.

### 3 Theoretische Grundlagen

#### 3.1 Molmassenverteilung und Molmassenmittelwerte

Biosynthetische Enzyme und DNA sind einheitliche Polymere, die in Bezug auf die Konstitution und die Molmasse identisch sind. Praktisch alle anderen Polymere sind uneinheitlich, was aufgrund der Synthesebedingungen und der Aufbereitungsverfahren zustande kommt [5], [53]. In der neueren Literatur wird darauf verwiesen, die Begriffe einheitlich und uneinheitlich für den alt hergebrachten Ausdruck Dispersität (monodispers, polydispers) zu verwenden. Nachfolgend ist ein Zitat aus dem Lehrbuch [5] von der Seite 14 aufgeführt, welches den Zusammenhang erklärt:

„Je nach der Abweichung vom Idealzustand unterscheidet man daher konstitutionell uneinheitliche (Typ, Anordnung) von molekularuneinheitlichen Polymeren, d.h. solchen mit einer Variation der Zahl der Repetiereinheiten von Makromolekül zu Makromolekül (E: non-uniform with respect to molar mass). Dieses Phänomen sollte nicht „Dispersität“ genannt werden, da sich „dispers“ immer auf mehrphasige Systeme bezieht und hier nur eine Phase vorliegt.“

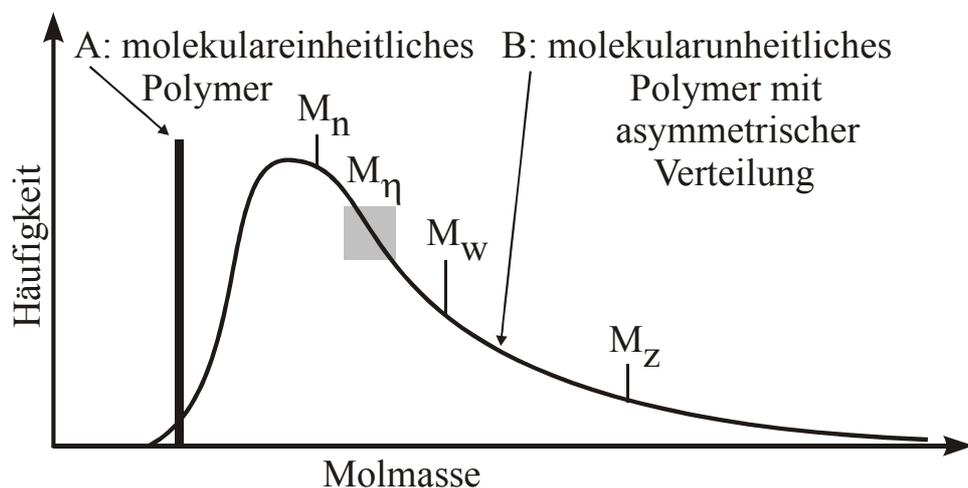


Abbildung 14: Auftragung der Molmassenverteilung eines molekular einheitlichen Polymers (A) und eines molekularuneinheitlichen Polymers (B) mit asymmetrischer Verteilung.

[5] Elias, H.-G., *Makromoleküle Band 3 Industrielle Polymere und Synthesen*, 6. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim, **2001**

[53] Kratochvil, P., *Classical Light Scattering from Polymer Solution*, Elsevier, Amsterdam, **1987**

In Abbildung 14 sind die Molmassenverteilungen eines molekulareinheitlichen Polymers und eines molekularuneinheitlichen Polymers mit den dazugehörigen Molmassenmittelwerten dargestellt.

Zur Charakterisierung eines Polymers werden Molmassenmittelwerte angegeben. Je nach Bestimmungsmethode erhält man unterschiedliche Molmassenmittelwerte. Es gibt das Zahlenmittel  $M_n$  (Osmometrie), das Viskositätsmittel  $M_\eta$  (Viskosimetrie), das Gewichtsmittel  $M_w$  (Lichtstreuung) und das z-statistische Mittel  $M_z$  (Zentrifuge), auch Zentrifugenmittel genannt. Die einzelnen Molmassenmittelwerte sind nach Gleichung 2 folgendermaßen definiert:

$$M_\beta = \frac{\sum_i n_i \cdot M_i^{\beta+1}}{\sum_i n_i \cdot M_i^\beta} \quad \text{mit :} \quad \begin{array}{ll} M_n : & \beta = 0 \\ M_w : & \beta = 1 \\ M_z : & \beta = 2 \end{array}$$

Gleichung 2

Das Zahlenmittel  $M_n$  berücksichtigt hochmolekulare Anteile nur gering, während das Gewichtsmittel  $M_w$  die hochmolekularen Anteile viel stärker gewichtet, d.h. das Zahlenmittel wird in erster Linie von den kleinsten Teilchen im System und das Gewichtsmittel von den größeren Teilchen beeinflusst. Der z-statistische Mittelwert  $M_z$  ist ein sehr empfindliches Maß für sehr große Teilchen in niedriger Konzentration. Ein Maß für die Verteilungsbreite ist der

Quotient aus  $\frac{M_w}{M_n}$ , der als Polymolekularitätsindex („Polydispersität“) bezeichnet wird. Bei einer Verteilungsbreite von eins liegt ein molekulareinheitliches Polymer vor und  $M_w$  und  $M_n$

sind identisch. Der Quotient  $\frac{M_z}{M_w}$  ist analog ein Maß für die Verteilungsbreite von großen und sehr großen Teilchen.

### 3.2 Molmassenbestimmung

Die Molmassenmittelwertbestimmung kann mit verschiedenen Methoden erfolgen. Es wird zwischen Absolut-, Relativ- und Äquivalentmethoden unterschieden.

Bei einer Absolutmethode wird die Molmasse direkt aus den bestimmten Messgrößen berechnet. Zu den Absolutmethoden zählt die Membranosmometrie und die Streulichtmessung.

Relativmethoden, wie z.B. die Größenausschlusschromatographie, benötigen eine Kalibrierungsbeziehung, aus der auf die Molmasse geschlossen wird. Dabei wird vorausgesetzt, dass die Kalibrierungs- und die Probensubstanz sehr ähnliche chemische und physikalische Eigenschaften, wie z.B. die Lösungsstruktur besitzen.

Bei der Äquivalentmethode wird, wie bei der Endgruppenbestimmung, die Kenntnis der chemischen Struktur vorausgesetzt. Die verschiedenen Methoden und der daraus bestimmbare Molmassenmittelwert sind in der Tabelle 8 zusammengefasst.

Tabelle 8: Methoden zur Molmassenbestimmung.

<i>Methode</i>	<i>Molmassenmittelwert</i>
<i>Absolutmethoden</i>	
Osmometrie	$M_n$
Isotherme Destillation	$M_n$
Ebullioskopie	$M_n$
Kryoskopie	$M_n$
Vaporimetrie	$M_n$
Streulichtmessung	$M_w$
Ultrazentrifugation	$M_w, M_z$
<i>Relativmethoden</i>	
Viskosimetrie	$M_\eta$
Größenausschlusschromatographie	$M_{SEC}$
<i>Äquivalentmethoden</i>	
Endgruppenbestimmung	$M_n$

### 3.3 Lösungsstruktur von Polymeren

Die Lösungsstruktur von Polymeren hängt primär vom chemischen Aufbau, d. h. von der Monomerlänge, dem Polymerisationsgrad, dem Bindungswinkel, den Ladungen, den Verzweigungen und den Seitenketten ab und sekundär von polymerunabhängigen Parametern [54]. Die polymerunabhängigen Einflussgrößen sind das Lösungsmittel, die Temperatur des Systems und die Konzentration des Polymers. Die verschiedenen Lösungszustände von Polymeren sind in Abbildung 15 aufgeführt. Zusätzlich zu den in der Abbildung dargestellten irreversiblen Zusammenlagerungen, den Aggregaten, gibt es noch die reversiblen Assoziate.

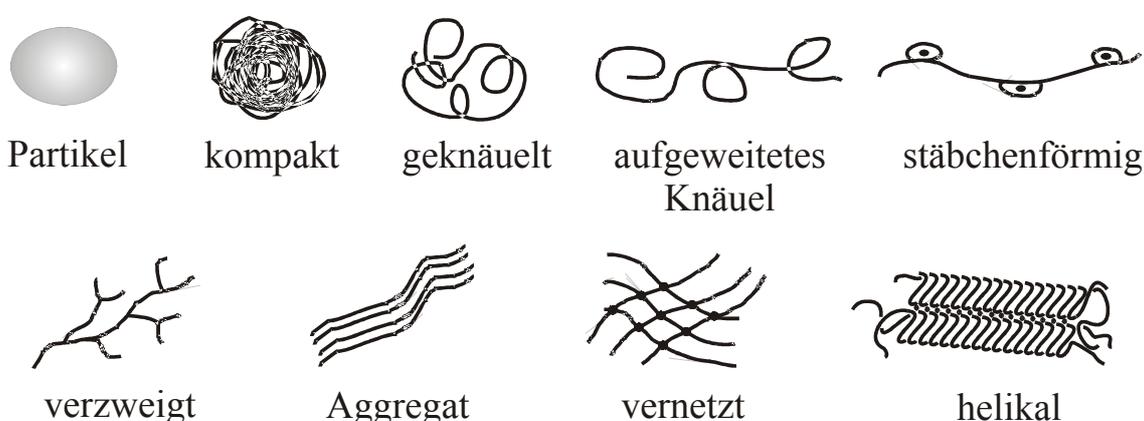


Abbildung 15: Unterschiedliche Lösungsstrukturen.

Bei partikulären Systemen mit fester Form werden für die jeweilige geometrische Form die entsprechenden Parameter verwendet (Kugel = Radius, Stäbchen = Länge). Bei nicht partikulären Systemen ist es durch die regellose bewegliche Knäuelstruktur in Lösung schwierig die Dimension des Polymers exakt zu bestimmen. Es kann nur ein zeitlicher Mittelwert verschiedener Konformationen gleicher potentieller Energie bestimmt werden [55]. Die Dimensionen eines Polymerknäuels werden durch den Fadenendenabstand (End-zu-End-Abstand) oder den Trägheitsradius definiert [56].

Der Fadenendabstand (End-zu-End-Abstand)  $\sqrt{h^2}$  gibt das zeitliche Mittel der Polymerkettenenden-Entfernung an und ist nur sinnvoll für Polymere mit definiertem Anfang

[54] Vollmert, B., *Grundriß der Makromolekularen Chemie*, E. Vollmert Verlag, Karlsruhe, **1979**

[55] Flory, P. J., *Die Konformation linearer Moleküle (Nobel-Vortrag)*, in: *Angew. Chem.*, **1975**, 22, 787

[56] Elias, H.-G., *Makromoleküle: Struktur, Eigenschaften, Synthesen, Stoffe, Technologie*, 4. Auflage, Hüttig und Wepf Verlag, Heidelberg, **1981**

und Ende. Der Gyrationradius  $R_{Gz}$  ist eine messtechnisch zu ermittelnde Größe und lässt sich für beliebige Teilchenformen angeben. Die Definition des Gyrationradius ist in der Gleichung 3 wiedergegeben.

$$R_G = \left( \frac{\sum m_i \cdot r_i^2}{\sum m_i} \right)^{\frac{1}{2}}$$

Gleichung 3

Dabei gibt  $r_i$  den Abstand der Massenpunkte  $m_i$  vom Schwerpunkt des Polymers an. Im Theta-Zustand (d.h. Das Knäuel liegt kräftefrei vor, Agglomerationskräfte werden durch Polymer-Lösungsmittel-Wechselwirkungen ausgeglichen) gilt zwischen dem Gyrationradius  $R_{Gz}$  und dem Fadenendenabstand  $\sqrt{h^2}$  die Beziehung:

$$\langle R_G \rangle^2 = \frac{1}{6} \cdot h^2$$

Gleichung 4

Über Struktur-Eigenschafts-Beziehungen, wie die  $R_G$ - $M$ - oder die  $[\eta]$ - $M$ -Beziehung (Mark-Houwink-Beziehung), erhält man den Zusammenhang zwischen der Molmasse, der Lösungsstruktur und der Teilchengröße bzw. der intrinsischen Viskosität  $[\eta]$ . Die beiden Struktur-Eigenschafts-Beziehungen sind in den Gleichungen 5 und 6 wiedergegeben. Die Exponenten  $a$  und  $\nu$  beschreiben die Aufweitung des Polymers.

$$[\eta] = K_{[\eta]} \cdot M^a$$

Gleichung 5

$$R_G = K_{R_G} \cdot M^\nu$$

Gleichung 6

Die Aufweitungparameter der Struktur-Eigenschafts-Beziehungen lassen sich nach Gleichung 7 ineinander umrechnen.

$$a = 3 \cdot \nu - 1$$

Gleichung 7

In der Tabelle 9 sind zu verschiedenen Werten der Aufweitungsparameter die Geometrie des Polymers angegeben.

*Tabelle 9: Angabe zur Geometrie des Polymers in Lösung bei verschiedenen Werten der Aufweitungsparameter.*

$a$	$\nu$	<b>Geometrie</b>
0	$\frac{1}{3}$	Kompakte Kugel
$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	Polymerknäuel im $\theta$ -Zustand (undurchspült)
$\frac{1}{2} < a < 1$	$\frac{1}{2} < \nu < \frac{2}{3}$	Teilweise durchspült
1	$\frac{2}{3}$	Vollständig durchspült
$1 < a < 2$	$\frac{2}{3} < \nu < 1$	Semiflexibles Stäbchen
2	1	Stäbchen

Nach der Fox-Flory-Theorie [57] lassen sich neben den Exponenten auch die Korrelationsfaktoren der beiden Beziehungen ineinander überführen, was in der Gleichung 8 gezeigt wird. Das bedeutet, dass durch die *SEC/MALLS/DRI*-Kopplung nicht nur eine  $R_G$ - $M$ -Beziehung, sondern auch eine kalkulierte  $[\eta]_{calc}$ - $M$ -Beziehung zugänglich ist.

$$K_{[\eta]} = K_{R_G}^3 \cdot \Phi$$

Gleichung 8

Liegt das Polymerknäuel nicht im Theta-zustand vor, muss die Flory-Konstante  $\Phi$  über den Korrekturterm in der Gleichung 9 angepasst werden, der über die Gleichung 10 mit dem Aufweitungsparameter verknüpft ist.

$$\Phi = \Phi^\theta \cdot (1 - 2,63 \cdot \varepsilon + 2,86 \cdot \varepsilon^2)$$

Gleichung 9

[57] Flory, P. J., Fox, T. G., Treatment of Intrinsic Viscosities, in: J. Am. Chem. Soc., 1951, Vol. 73, 1904

---

$$\varepsilon = 2 \cdot \nu - 1$$

*Gleichung 10*

In dieser Arbeit wurde für ungeladene Polymere die Flory-Konstanten von Yamakawa [58], mit  $\Phi^0 = 3,69 \cdot 10^{24}$  verwendet. Die Umrechnung der Korrelationsfaktoren gilt streng genommen nur für monodisperse Substanzen. Bei polydispersen Proben setzt die Umrechnung gewichtete Mittelwerte voraus. Die unterschiedlichen Methoden liefern verschiedene Mittelwerte. Die theoretisch berechneten Gleichungen weichen bei steigender Polydispersität stärker von den experimentell ermittelten ab.

---

[58] Yamakawa, H., Modern Theory of Polymer Solutions, Harper & Row, New York, 1971

## 3.4 Größenausschlusschromatographie

### 3.4.1 Historischer Überblick der Größenausschlusschromatographie

Die Fraktionierungseinheit Größenausschlusschromatographie [59] (engl. size exclusion chromatography, *SEC*) ist eine Form der High Performance Liquid Chromatography *HPLC*. Historisch ist die SEC 1959 auf Porath und Flodin [60] zurückzuführen, die mit quer vernetzten Dextrangelen in wässrigen Medien Proteine auf der Basis ihres Molekulargewichtes trennten [61], [62]. Die quer vernetzten Dextrangele wurden auch kommerziell unter dem Namen Sephadex<sup>®</sup> angeboten. Fünf Jahre später entwickelte Moore ein quer vernetztes Polystyrolgel (Copolymer aus Styrol und Divinylbenzol), welches es erlaubte, synthetische Polymere in organischen Medien zu trennen. Die Füllmaterialien der SEC-Säulen wurden seitdem sowohl für wässrige als auch organische Medien ständig weiterentwickelt und weiter erforscht [63], [64], [65], [66], [67], [68]. Häufig benutzte Materialien sind modifizierte Polysaccharide (Sephadex<sup>®</sup> und Sepharose<sup>®</sup>), Kieselgele, Polyethylenglykoldimethylacrylat, mit Divinylbenzol vernetzte Styrolgele, poröses Glas,

---

[59] Mori, S., Barth, H. G., *Size Exclusion Chromatography*, Springer, Berlin, **1999**

[60] Porath, J., Flodin, P., *Gel filtration: a method for desalting and group separation.*, in: *Nature*, **1959**, 183(4676), 1657-1659

[61] Porath, J., *Fractionation of polypeptides and proteins on dextran gels.*, in: *Clin Chim Acta*, **1959**, 4, 776-778.

[62] Porath, J., *Gel filtration of proteins, peptides and amino acids.*, in: *Biochim Biophys Acta*, **1960**, 39, 193-207

[63] Knox, J. H., Pryde, A., *Performance and selected applications of a new range of chemical Bonded Packing Materials in High-Performance Liquid Chromatography*, in: *Journal of Chromatography*, **1975**, 112, 171-188

[64] Kato, Y., Matsuda, T., Hashimoto, T., *New Gel Permeation Column for the Separation of watersoluble Polymers*, in: *Journal of Chromatography*, **1985**, 332, 39-46

[65] Barth, H. G., Boyes, B. E., Jackson, C., *Size Exclusion Chromatography and Related Separation Techniques*, in: *Anal. Chem.*, **1998**, 70, 251R-278R

[66] Yang, G.; Zhang, L.; Xiong, X.; Cao, X.; Yang, Y., *Size exclusion chromatographic column packed with regenerated cellulose gels*, in: *Chinese Journal of Polymer Science*, **2001**, 19(4), 415-419

[67] Coutinho, F. M. B.; Neves, M. A. F. S.; Dias, M. L., *Porous crosslinked spherical resins for diversified applications: packing materials for size exclusion chromatography*, in: *Macromolecular Symposia*, **2002**, 189(Polymer Science Insights), 27-43

[68] Sakai, K.; Teng, T. C.; Katada, A.; Harada, T.; Yoshida, K.; Yamanaka, K.; Asami, Y.; Sakata, M.; Hirayama, C.; Kunitake, M., *Designable Size Exclusion Chromatography Columns Based on Dendritic Polymer-Modified Porous Silica Particles*, in: *Chemistry of Materials*, **2003**, 15(21), 4091-4097

Polyacrylamide [8] . Aufgrund der Etablierung der Größenausschlusschromatographie sind über die Jahrzehnte viele Bücher erschienen, die sich mit dem Thema beschäftigten [69] , [70] , [71] , [72] , [73] , [74] , [75] , [76] , [77] , [78] , [59] .

### 3.4.2 Theoretische Grundlagen zur Größenausschlusschromatographie

Bei der idealen Trennung in der Größenausschlusschromatographie kommt es zu keiner Wechselwirkung zwischen der stationären Phase und den Polymeren in Lösung. Die Polymere werden nur aufgrund ihrer unterschiedlichen hydrodynamischen Volumina fraktioniert (Molekularsiebeffekt). Der Trennmechanismus basiert auf der unterschiedlichen Volumenverfügbarkeit für die einzelnen hydrodynamischen Radien der gelösten Polymermoleküle.

Die Säule ist mit einem porösen Füllmaterial bestimmter Teilchengröße mit definierter Porengrößenverteilung gepackt (siehe Abbildung 16). Die Angaben zu den verwendeten Säulensystemen sind im experimentellen Teil (7.6.1 SEC-Säulen) zu finden. Die Poren werden vom Lösungsmittel durchspült und Polymermoleküle diffundieren statistisch in Poren des Säulenfüllmaterials, die ihnen aufgrund ihrer Größe zugänglich sind. In der Abbildung 17 ist das Trennprinzip der Größenausschlusschromatographie schematisch dargestellt. Große Polymermoleküle (A) können nicht in Poren geringerer Größe eindiffundieren, sie werden

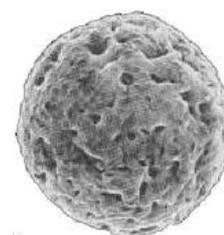


Abbildung 16 :  
Poröses Säulenfüllmaterial.

- 
- [8] *CD Römpp Chemie Lexikon*, Version 1, Georg Thieme Verlag, Stuttgart
  - [69] Determann, H., *Gel Chromatography*, Springer, Berlin, **1968**
  - [70] Altgelt, K. H., Segal, L., *Gel Permeation Chromatography*, Dekker, New York, **1971**
  - [71] Snyder, L. R., Kirkland, J. J., *Introducing to Modern Liquid Chromatography*, Wiley, New York, **1979**
  - [72] Yau, W. W., Kirkland, J. J., Bly, D. D., *Modern Size Exclusion Chromatography*, Wiley, New York, **1979**
  - [73] Kremmer, T., Boross, L., *Gel Chromatography*, Wiley New York, **1979**
  - [74] Provder, T., *Size Exclusion Chromatography Methodology and Characterization of Polymers and related Materials*, American Chemical Society, Washington, D. C., **1984**
  - [75] Dubin, P. L., *Aqueous Size Exclusion Chromatography*, Elsevier, Amsterdam, **1988**
  - [76] Hunt, B. J., Holding, S. B., *Size Exclusion Chromatography*, Chapman and Hall, New York, **1989**
  - [77] Aced, G., Möckel, H. J., *Liquidchromatographie Apparative, theoretische und metodische Grundlagen der HPLC*, VCH, Weinheim, **1991**
  - [78] Wu, C.-S., *Handbook of Size Exclusion Chromatography*, Dekker, New York, **1995**
  - [59] Mori, S., Barth, H. G., *Size Exclusion Chromatography*, Springer, Berlin, **1999**

ausgeschlossen und von der mobilen Phase durch die Säule transportiert (Größenausschluss). Ihnen steht nur das Volumen  $V_0$  zwischen dem Säulenfüllmaterial zur Verfügung.

Sehr kleine Polymermoleküle (D) können hingegen das gesamte Volumen, bestehend aus dem Porenvolumen  $V_P$  und dem Zwischenvolumen  $V_0$ , nutzen, indem sie tief in alle Poren eindringen. In den Poren bewegen sich die Polymermoleküle ausschließlich durch Diffusion. Durch das Eindringen in Poren wird ihre Elution verzögert.

Bei den Polymermolekülen mittlerer Größe (B,C) kann das vorhandene Porenvolumen nur zu einem Teil genutzt werden. Sie eluieren nach den großen Teilchen (A) und vor den kleinen Teilchen (D).

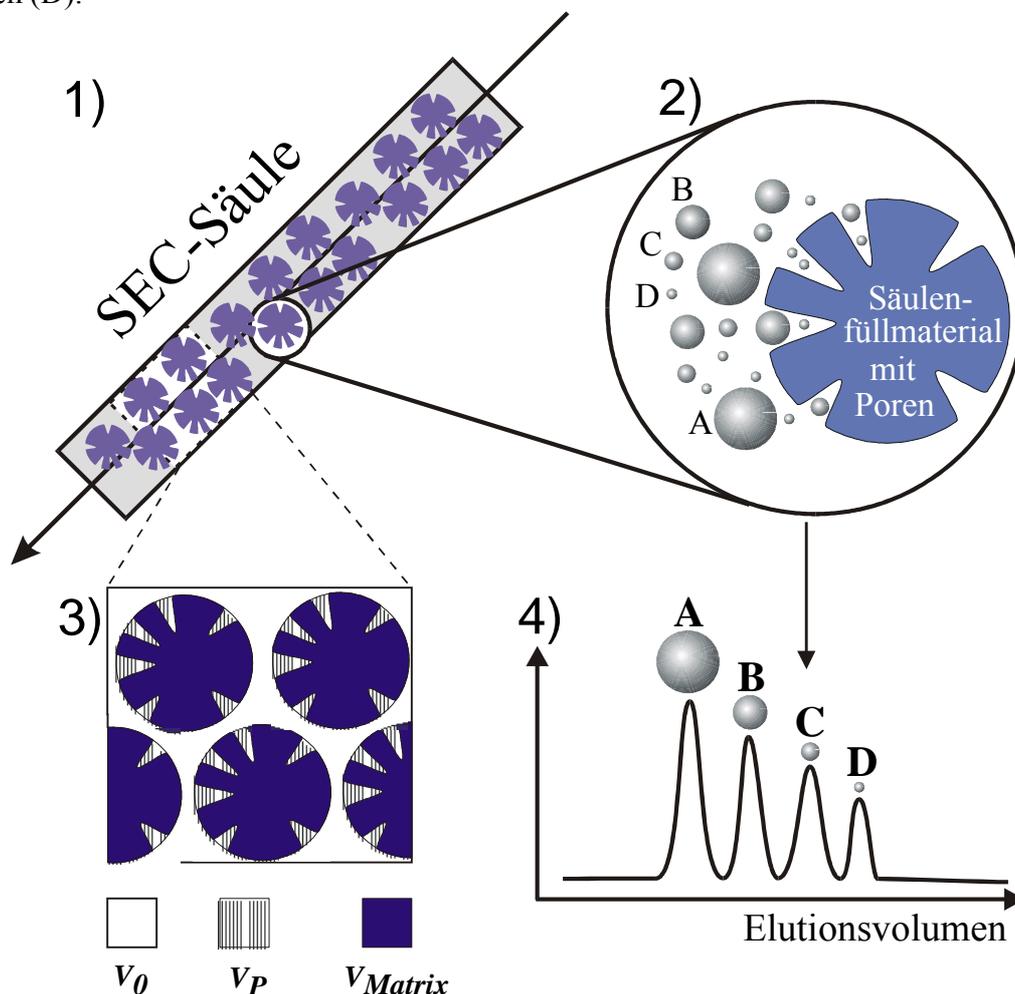


Abbildung 17: Schematische Darstellung des Trennprinzips der Größenausschlusschromatographie.

Je kleiner das Molekül, um so größer ist das zugängliche Porenvolumen und desto höher ist die Verzögerung der Elution. Die Polymermoleküle eluieren daher in der Reihenfolge abnehmender hydrodynamischer Radien. Das Elutionsvolumen  $V_e$  wird durch die empirische

Gleichung 11 mit Hilfe des Verteilungskoeffizienten  $K_{SEC}$ , dem Zwischenkornvolumen  $V_0$  und dem Porenvolumen  $V_P$  (schematische Darstellung der Volumina  $V_0$  und  $V_P$  in Abbildung 17) beschrieben :

$$V_e = V_0 + K_{SEC} \cdot V_P$$

Gleichung 11

Der Verteilungskoeffizient  $K_{SEC}$  beschreibt das Verhältnis der mittleren Konzentration innerhalb  $\langle c \rangle_P$  und außerhalb der Poren  $\langle c \rangle_0$  [79], [80]. Er liegt im Wertebereich zwischen Null, für vollständig ausgeschlossene Polymermoleküle (Größenausschluss), und Eins, was einer vollständige Durchdringung der stationären Phase entspricht.

$$K_{SEC} = \frac{\langle c \rangle_P}{\langle c \rangle_0}$$

Gleichung 12

Ist  $K_{SEC} = 1$  oder  $K_{SEC} = 0$  ergibt sich keine Fraktionierung. Die Polymermoleküle bewegen sich während der Trennung in der Säule ständig zwischen der mobilen Phase und der stationären Phase.

Die Verteilung der Polymere zwischen mobiler und stationärer Phase kann als thermodynamisches Gleichgewicht zwischen zwei Phasen beschrieben werden. Bei der Einstellung des thermodynamischen Gleichgewichts sind die chemischen Potentiale aller gelösten Komponenten innerhalb und außerhalb der Poren gleich. Im Gleichgewichtszustand gilt für verdünnte Lösungen :

$$\Delta G^0 = -R \cdot T \cdot \ln K$$

Gleichung 13

mit

Im Idealfall treten bei der Größenausschlusschromatographie keine energetischen

[79] Giddings, J. C., Kucera, E., Russel, C. P., Myers, M. N., *Statistical theory for the equilibrium distribution of rigid molecules in inert porous networks. Exclusion Chromatography*, in: J. Phys. Chem., **1968**, 72, 4397.

[80] van Kreveland, M. E., van den Hoed, N., *Mechanism of gel permeation chromatography distribution coefficient*, in: J. Chrom., **1973**, 83, 111

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T \cdot \Delta S^0$$

Gleichung 14

Wechselwirkungen mit der stationären Phase auf, weshalb der Enthalpieterm  $\Delta H^0$  null ist. Die Verteilung zwischen den beiden Phasen wird nur durch die Entropie  $\Delta S^0$  bestimmt. Für den Verteilungskoeffizienten der Größenausschlusschromatographie  $K_{SEC}$  ergibt sich dann die Gleichung 15:

$$K_{SEC} = e^{\frac{\Delta S^0}{R}}$$

Gleichung 15

Die Diffusion in die Poren ist mit einer Entropieabnahme verbunden, da die Bewegungsmöglichkeiten der Polymermoleküle in den Poren abnimmt. Daraus ergibt sich, dass der Verteilungskoeffizient  $K_{SEC}$  kleiner als eins ist. Der Verteilungskoeffizient lässt sich nicht theoretisch berechnen. Deshalb muss der Zusammenhang zwischen der Molmasse und dem Elutionsvolumen empirisch über eine Kalibrierung der Säulen mittels eng verteilter Standards realisiert werden.

Zwischen den Retentionsvolumen  $V_e$  und dem Logarithmus der Molmasse  $\log M$  besteht eine praktisch lineare Beziehung, die als Eichbeziehung für Polymere gleicher Konstitution und Konfiguration im gleichen Lösungsmittel, bei gleicher Temperatur, an der gleichen Trennsäule und mit dem gleichen Fluss verwendet werden kann. Eine Kalibrierungskurve wo  $\log M$  gegen das Retentionsvolumen geplottet ist, differiert bei unterschiedlichen Polymertypen. Lineare und Verzweigte Polymermoleküle gleicher Molmasse weisen daher am gleichen Träger unterschiedliche Retentionsvolumina auf. Als Maß für die Molekülvolumina lässt sich das Produkt  $[\eta]M$  aus dem Staudingerindex und der Molmasse verwenden, das die physikalische Einheit eines Molvolumens aufweist. Im Trennbereich ist das Retentionsvolumen  $V_e$  über ca. 2-3 Dekaden von  $[\eta]M$  eine lineare Funktion von  $\log ([\eta]M)$  [59] , [81] .Die Auftragung von  $\log ([\eta]M)$  gegen das Elutionsvolumen für Polymere unterschiedlicher Konformation (linear und verzweigt) fügt sich in einen einzigen Plot. Diese

[59] Mori, S., Barth, H. G., *Size Exclusion Chromatography*, Springer, Berlin, **1999**

[81] Elias, H.-G., *Makromoleküle – Physikalische Strukturen und Eigenschaften, Band 2*, 6. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim, **2001**

von Beniot et al. [82] eingeführte Kurve wird als universelle Kalibrierungskurve bezeichnet.

### 3.4.3 Limitation der Größenausschlusschromatographie

Eine Kalibrierung der Größenausschlusschromatographie kann bei unterschiedlicher Konstitution von Polymeren aufgrund der thermodynamischen Uneinheitlichkeit zu Abweichungen führen. Erst die Kopplung der Größenausschlusschromatographie mit z.B. einer Detektorkombination aus Vielwinkellaserlichtstreuphotometer MALLS und Konzentrationsdetektion RI ergibt eine absolute Methode, die unabhängig von Kalibriermethoden der Größenausschlusschromatographie ist.

Desweiteren ist die Größenausschlusschromatographie bezüglich der Fraktionierung limitiert. Problematische Polymere sind ultrahochmolekulare Polymere sowie hochgeladene anionische und kationische Polyelektrolyte. Die Limitation wird als None-Size-Exclusion Effekt beschrieben und beinhaltet mehrere Mechanismen [83], die in Abbildung 18 schematisch dargestellt sind. Diese Effekte führen zu einer komplexen Beziehung zwischen Elutionsvolumen und der Molmasse bzw. dem Molmassenverlauf und erschweren oder verhindern eine Bestimmung.

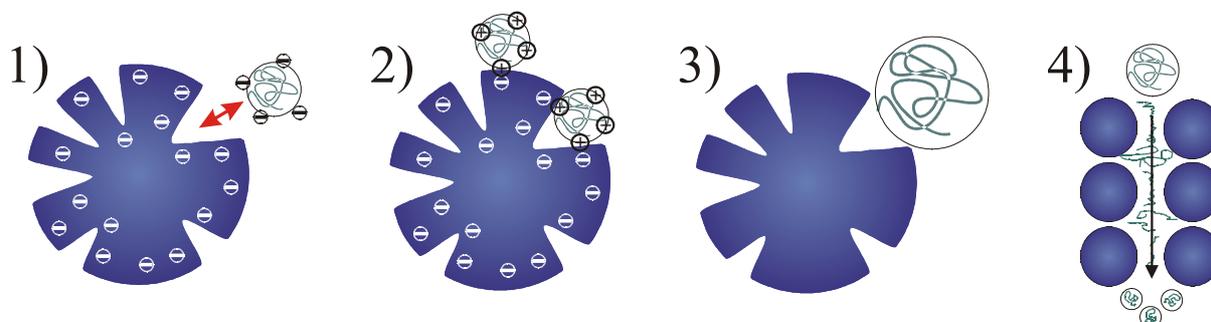


Abbildung 18 : Limitationen der Größenausschlusschromatographie, schematisch dargestellt sind 1) Ionenausschluss, 2) Adsorption, 3) Größenausschluss 4) Degradation

Bei Polyelektrolyten kommt es zu elektrostatischen Wechselwirkungen mit dem Säulenfüllmaterial, welches überwiegend anionische Gruppen enthält. Dies führt bei Polyanionen durch Abstoßungskräfte zum Ionenausschluss. Die Polyanionen können durch die Abstoßung mit der gleichartig geladenen Oberfläche des Säulenfüllmaterials nicht ihrer

[82] Grubisic, Z., Rempp, P., Benoit, H., in: J. Polym. Sci. Polym. Lett, **1967**, Vol. 5, S753-759

[83] Segudovic, N., *Additional separation mechanisms in high performance size-exclusion chromatography*, in: Polimeri, **1999**, 20(1-2), 19-28

eigentlichen Größe entsprechend in die Poren hinein diffundieren und werden deshalb nicht richtig fraktioniert (Abbildung 18 Punkt 1). Bei Polykationen kommt es zu einer Adsorption auf dem Säulenfüllmaterial (Abbildung 18 Punkt 2). Die Fraktionierungsgrenze im hochmolekularen Bereich ist durch die maximale Porengröße des Säulenfüllmaterials bestimmt (säulenspezifisch). Moleküle mit einer Molmasse bzw. Teilchengröße oberhalb eines Grenzwerts werden nicht mehr fraktioniert. Dies wird als Größenausschluss bezeichnet und ist in der Abbildung 18 unter dem Punkt 3 schematisch dargestellt. Zudem kann es aufgrund hoher Dehnkräfte in der Kugelschüttung des Säulenfüllmaterials zu einer Degradation des Polymers kommen [84] , [85] , [86] , [87] . Die größte Dehnung erfolgt im Zwischenraum-Volumen des Füllmaterials und ist abhängig von der Flussrate. Dies führt zu falschen bzw. zu geringeren Molmassen (Abbildung 18 Punkt 4) und kann auch Aggregate oder Assoziate zerstören.

Außerdem müssen noch weitere Effekte [59] , [88] , die zu einer Bandenverbreiterung (Signalverbreiterung) während der Trennung führen können, berücksichtigt werden. Bei der „Eddy-Diffusion“ kommt es zu einer Bandenverbreiterung durch unterschiedliche Flusswege des Eluenten und ist somit ein Parameter für die Qualität der Säulenpackung. Die Bandenverbreiterung verringert sich mit der Abnahme der Partikelgröße. Heutzutage sind die Partikelgrößen von kommerziellen Säulen sehr klein und die Qualität der Säulenpackung auf einem hohen Stand, sodass die Eddy-Diffusion einen nur geringen Einfluss hat.

Ein weiterer Effekt ist die „Längsdiffusion“, bei der eine Bandenverbreiterung durch eine

---

[84] Kulicke, W.-M., Böse, N., *Bestimmung der Molmassenverteilung sowie der Stabilitätsgrenze von Polyacrylamiden unter Benutzung einer kombinierten SEC/LALLS Anlage*, in: Colloid & Polymer Sci., **1984**, 262, 197-207

[85] Ikeda, J.; Oe, H.; Aota, H.; Matsumoto, A., *Influence of structural parameters on the degradation of ultrahigh-molecular-weight vinyl-type network-polymer precursors during elution through size exclusion chromatography columns*, in: Journal of Applied Polymer Science, **2003**, 90(2), 577-582

[86] Aust, N.; Parth, M.; Lederer, K., *SEC of ultra-high molar mass polymers: optimization of experimental conditions to avoid molecular degradation in the case of narrow polystyrene standards*, in: International Journal of Polymer Analysis and Characterization, **2001**, 6(3-4), 245-260

[87] Aust, N., *Application of size-exclusion chromatography to polymers of ultra-high molar mass*, in: Journal of Biochemical and Biophysical Methods, **2003**, 56(1-3), 323-334

[59] Mori, S., Barth, H. G., *Size Exclusion Chromatography*, Springer, Berlin, **1999**

[88] Dauwe, C., Hofe, T., Reinhold, G., *Flüssigchromatographie: Vielseitiges Medium für GPC-, Bio- und Polymeranalysen*, in: Chemie in Labor und Biotechnik, **2000**, Heft 5, 51, 174-179

Verdünnung der Probe durch die mobile Phase in Richtung der Säulenachse erfolgt. Die Längsdiffusion tritt in der SEC aber nur bei sehr geringen Flussraten auf und ist deswegen meist zu vernachlässigen.

Durch das Zusammenwirken von mehreren Komponenten tritt ein weiterer Effekt auf. Der Austausch zwischen mobiler Phase und dem Porenvolumen erfolgt nur langsam, d.h. Probenmoleküle gleicher Größe bzw. gleicher Molmasse diffundieren in die Poren und verweilen dort, während der Hauptteil der gleich großen Probefraktion weitergetragen wird. Eine Bandenverbreiterung, die auf diesen Effekt beruht, ist von der Porentiefe abhängig und nimmt mit zunehmendem Fluss und zunehmender Viskosität des Analyten und des Eluenten zu. Um dies zu umgehen, kann die Temperatur (Viskositätserniedrigung) erhöht und der Fluss verringert werden. Norton et al. untersuchten diesen als „Viscous Fingering“ bezeichneten Effekt [89], [90].

Eine ungewollte Peakverbreiterung kann durch das „Extra-Column Volume“ erfolgen, welches sich aus den Volumina der Autosamplerinjektion, der Detektorzellen und der Schlauchverbindungen (*PEEK*-Tubing) zusammensetzt. Dieses Volumen sollte so gering wie möglich gehalten werden (Detektoren mit kleinen Zellvolumina, kurze Schlauchverbindungen (*PEEK*-Tubing), kleine Injektionsvolumina).

---

[89] Norton, T. T., Fernandez, E. J., *Viscous Fingering in Size Exclusion Chromatography: Insights from numerical simulation*, in: *Ind. Eng. Chem. Res.*, **1996**, *35*, 2460-2468

[90] Fernandez, E. J., Norton, T. T., Jung, W. C., Tsavalas, J. G., *A Column Design for reducing Viscous Fingering in Size Exclusion Chromatography*, in: *Biotechnol. Prog.*, **1996**, *12*, 480-487

### 3.4.4 Kombination der SEC mit Detektoren

Die Größenausschlusschromatographie als Fraktionierungsmethode ist eine relative Methode, die auf eine Kalibrierung angewiesen ist. Durch eine Kombination der Größenausschlusschromatographie mit bestimmten Detektoren, z.B. Lichtstreuphotometer, erhält man eine Absolutmethode zur Polymercharakterisierung. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Größenausschlusschromatographie mit einem Vielwinkellaserlichtstreuphotometer *MALLS* und einem Konzentrationsdetektor *RI* gekoppelt (Dualdetektorsystem). Der Aufbau der Anlage ist in Abbildung 19 schematisch dargestellt. Dabei wird über eine Pumpe das Elutionsmittel aus einem Vorratsbehälter durch die Anlage gefördert.

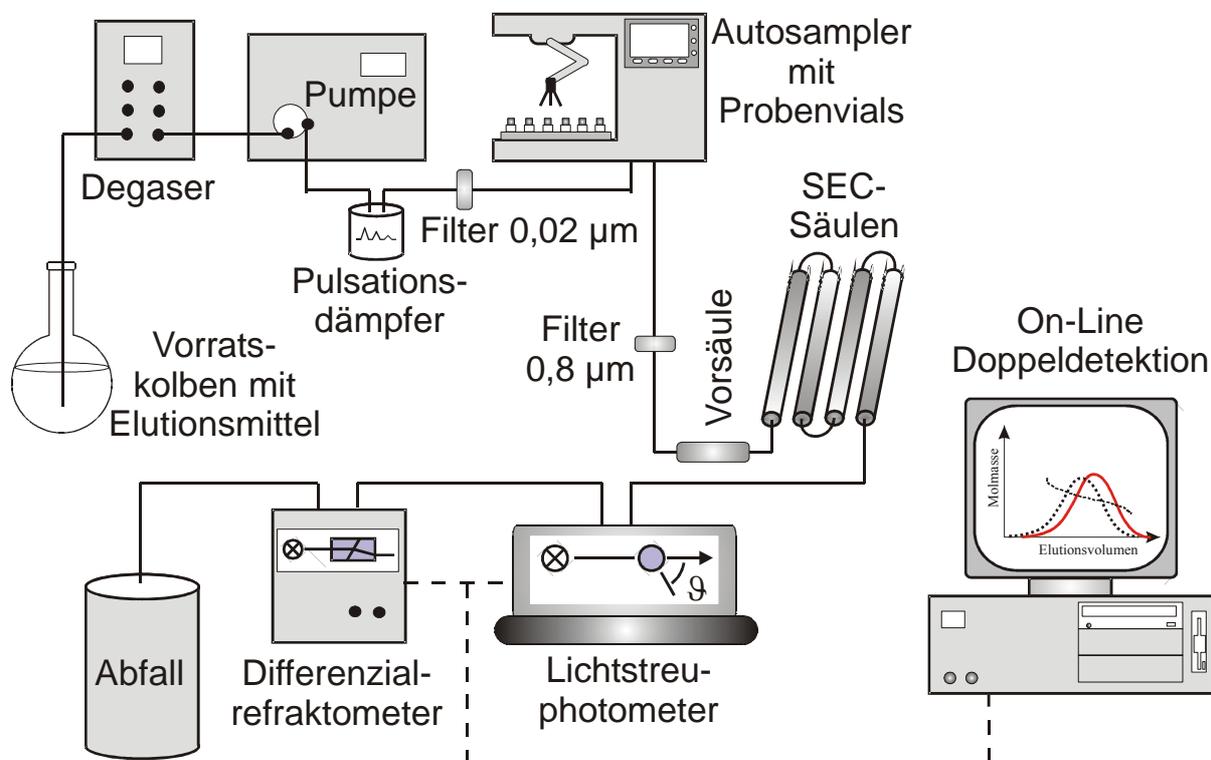


Abbildung 19: Aufbau einer kombinierten Anlage aus Größenausschlusschromatographie SEC, Vielwinkellaserlichtstreu-photometer *MALLS* und Konzentrationsdetektor *RI*.

Ein Degaser entzieht durch Unterdruck gelöste Gase aus dem Eluenten, da diese die empfindliche Detektorkombination stören. Nach der Pumpe folgt ein Pulsationsdämpfer und ein Inline-Filter. Der Filter dient dazu Verunreinigungen, die z.B. durch Pumpenabrieb entstehen, zu entfernen. Über den Autosampler werden die Probenlösungen injiziert und gelangen über einen weiteren Filter und der Vorsäule zu den *SEC*-Säulen. Der Filter und die Vorsäule dienen als Schutz für die *SEC*-Säulen. Nach der Fraktionierung durchläuft die

Probenlösung die Detektorkombination aus dem Vielwinkellaserlichtstreuophotometer und dem Konzentrationsdetektor, wobei ein Computer die Messdaten aufzeichnet.

Es sind aber auch andere Detektoren oder Detektorkombinationen (Mono-, Dual- und Multidetektorsystem) möglich. Als Detektoren werden z.B. Massenspektrometer, wie Inductively Coupled Plasma Massenspektrometer (*ICP-MS*) [91], [92], Atmospheric-Pressure Ionization Massenspektrometer (*API-MS*) [93], Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Massenspektrometer (*MALDI-TOF*) [94] oder Electrospray-Ionization Massenspektrometer (*ESI-MS*) [95] verwendet. Desweiteren werden noch Viskosimeter [96], NMR-Spektrometer [97], Electrothermal atomic absorptions Spektrometer (*ETAAS*) [98], dynamisches Lichtstreuophotometer (*QUELS*) [99] und Infrarot-Spektrometer (*FT-IR*) [100],

---

[91] Casartelli, E. A.; Miekeley, N., *Determination of thorium and light rare-earth elements in soil water and its high molecular mass organic fractions by inductively coupled plasma mass spectrometry and on-line-coupled size-exclusion chromatography*, in: Analytical and Bioanalytical Chemistry, **2003**, 377(1), 58-64

[92] Koplík, R.; Pavelkova, H.; Cincibuchova, J.; Mestek, O.; Kvasnicka, F.; Suchanek, M., *Fractionation of phosphorus and trace elements species in soybean flour and common white bean seeds by size exclusion chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry*, in: Journal of Chromatography, B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, **2002**, 770(1-2), 261-273

[93] Prokai, L.; Simonsick, W. J., Jr., *Size-exclusion chromatography with on-line mass spectrometric detection: Techniques and applications*, Abstracts of Papers, 225th ACS National Meeting, New Orleans, LA, United States, March 23-27, **2003**

[94] Jacobs, A.; Dahlmann, O., *Characterization of the Molar Masses of Hemicelluloses from Wood and Pulpes employing Size Exclusion Chromatography and Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry*, in: Biomacromolecules, **2001**, 2, 894-905

[95] Reemtsma, T.; These, A., *On-line Coupling of Size Exclusion Chromatography with Electrospray Ionization-Tandem Mass Spectrometry for the Analysis of Aquatic Fulvic and Humic Acids*, in: Analytical Chemistry, **2003**, 75(6), 1500-1507

[96] Kaivez, A.; Gallez, X. A.; Daoust, D.; Devaux, J.; Godard, P., *Molecular structure characterization of linear and branched polystyrene blends by size exclusion chromatography coupled with viscometry*, in: Polymer, **2002**, 43(11), 3181-3190

[97] Neiss, T. G.; Cheng, H. N., *Coupled SEC-NMR analysis of alginates*, ACS Symposium Series, **2003**, 834, 382-395

[98] Laborda, F.; Vicente, M. V.; Mir, J. M.; Castillo, J. R., *Evaluation of on-line coupling size exclusion chromatography electrothermal atomic absorption spectrometry for selenium speciation*, in: Fresenius J. Anal. Chem., **1997**, 357, 837-843

[99] Mrkvičková, L.; Porsch, B.; Sundelöf, L.-O., *Study of Poly(methyl methacrylate) Stereocomplexes by Size Exclusion Chromatography and Dynamic Light Scattering*, in: Macromolecules, **1999**, 32, 1189-1193

[100] Gorner, T.; de Donato, P.; Ameil, M.-H.; Montarges-Pelletier, E.; Lartiges, B. S., *Activated sludge exopolymers: separation and identification using size exclusion chromatography and infrared micro-spectroscopy*, in: Water Research, **2003**, 37(10), 2388-2393

[101] , [102] verwendet. Im Übersichtsartikel von Barth et al. [65] werden noch mehrere Detektoren, wie ein Chemiluminescent Nitrogen Detector, ein Dichtedetektor, ein Flammionisationsdetektor (*FID*), ein *MALDI/TOF*, ein Osmometer, ein Ozonisationsdetektor und ein Radioaktivitätsdetektor gekoppelt mit der Größenausschlusschromatographie, beschrieben. Ein Beispiel für ein Multidetektorsystem ist die Kombination aus Vielwinkellichtstreuendetektor/Viskosimeter/Konzentrationsdetektor [103] , [104]. Die Größenausschlusschromatographie ist eine seit langem eingesetzte Fraktionierungsmethode, die mit den unterschiedlichsten Detektoren oder Detektorkombination betrieben werden kann.

---

[101] Kok, S. J.; Arentsen, N. C.; Cools, P. J. C. H.; Hankemeier, Th.; Schoenmakers, P. J., *Fourier transform infrared spectroscopy with a sample deposition interface as a quantitative detector in size-exclusion chromatography*, in: *Journal of Chromatography A*, **2002**, 948(1-2), 257-265

[102] Verdurmen-Noël, L., Baldo, L., Bremmers, S., *SEC-FTIR characterization of semi-crystalline HDPE and PP*, in: *Polymer*, **2001**, 42, 5523-5529

[65] Barth, H. G., Boyes, B. E., Jackson, C., *Size Exclusion Chromatography and Related Separation Techniques*, in: *Anal. Chem.*, 1998, 70, 251R-278R

[103] Hong, L.; Wang, X.; Tang, X., *Studies on hyperbranched polyurethane by multidetector size exclusion chromatography*, in: *Journal of Applied Polymer Science*, **2002**, 85(11), 2445-2450

[104] Xie, R.; Brun, Y.; Gorenstein, M. V., *System and method for determining radius of gyration, molecular weight, and intrinsic viscosity of a polymeric distribution using gel permeation chromatography and light-scattering detection*, **2003**, Patent WO 2003036258

### 3.5 Lichtstreuung

Licht wird erst durch die Wechselwirkung mit Materie sichtbar. Wenn man z.B. mit einem Laserpointer auf eine Fläche zeigt, so sieht man nur den Punkt, wo das Licht auf die Materie trifft, nicht aber den Strahlengang. Um den Strahlengang des Laserpointers sichtbar zu machen, muss das Licht also mit der Materie in Wechselwirkung treten. Deshalb wird z.B. vor einer Lasershow der Raum mit Rauch gefüllt, um die Strahlengänge sichtbar zu machen. Dieser Effekt wird auch bei den Sonnenstrahlen beobachtet, die durch staubige Raumluft sichtbar werden. Er beruht auf der Anregung von Elektronen [105] in der Materie durch das Licht. Wenn die elektromagnetische Strahlung auf Materie trifft, werden die Elektronen zur Schwingung mit derselben Frequenz angeregt und fungieren wiederum als Quelle elektromagnetischer Strahlung (schwingender Dipol). Das Licht wird von diesen Quellen in alle Raumrichtungen abgestrahlt, wobei die Intensität des Streulichtes nur einen kleinen Bruchteil (ca.  $10^{-4}$  bis  $10^{-6}$ ) des eingestrahnten Primärlichtes darstellt. Aus diesem Grund muss die Intensität des Primärstrahls sehr groß und konstant sein, um eine möglichst große Streulichtintensität zu erhalten. Das Streulicht weist die gleiche Polarisationsrichtung wie der Primärstrahl auf und ist aufgrund der Kohärenz interferenzfähig.

Voraussetzung für Streulichtmessungen ist der Ausschluss von Absorption und Lumineszenz, die eine andere Art der Wechselwirkung mit dem Licht beschreiben. Grundlegende Betrachtungen und Modelle zur Lichtstreuung sind von Rayleigh [106], Einstein, [107], und Smoluchowski [108], [109] veröffentlicht worden. Das Modell der elastischen Streuung nach Rayleigh geht davon aus, dass eine Serie von Photonen mit definierter Frequenz auf ein großes Teilchen (Polymermolekül) treffen, wodurch die Bindungselektronen mit derselben Frequenz zur Schwingung angeregt werden. Das Modell der inelastischen Streuung nach Raman beinhaltet, dass ein Teil der Energie durch Deformation des großen Teilchens (Polymermolekül) inelastisch aufgenommen und wieder abgestrahlt wird. Bei Streulichtmessungen ist der Raman Anteil mit maximal 0.1 % gegenüber den statistischen Fehlern bei der Auswertung gering und gegenüber dem elastischen Term zu vernachlässigen.

---

[105] Atkins, P. W., *Physikalische Chemie*, VCH, Weinheim, **1990**, 632-635

[106] Rayleigh, J., Strutt, J. W., *On James Bernoulli's theorem in probabilities*, in: *Philosophical Magazine*, **1899**, 47/5, 246-251

[107] Einstein, A., *Theorie der Opaleszenz von homogenen Flüssigkeiten und Flüssigkeitsgemischen in der Nähe des kritischen Zustandes*, in: *Ann. Phys.*, **1910**, 33, 1275-1298

[108] Smoluchowski, M., in: *Ann. Phys.*, **1908**, 25, 205

[109] Smoluchowski, M., in: *Phil. Mag.*, **1912**, 23, 165

Der Zusammenhang zwischen der Lichtstreuung und der Polymeranalytik wurden durch die Arbeiten von Raman [110], Debye [111] und Zimm [112], [113] gelegt. In der heutigen Zeit ist die Streulichtmessung eine etablierte Methode, die in vielen Lehrbüchern [114], [115], [53], [116] beschrieben wird. Die Bedeutung von Streulichtmessungen in der Polymerforschung ergibt sich daraus, dass mit ihr eine Reihe von wichtigen Parametern in Lösung ermittelt werden können. Neben der gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  können mit einem Vielwinkel-Lichtstreuphotometer der Gyrationradius  $R_{Gz}$  und der „zweite Virialkoeffizient“  $A_2$  bestimmt werden. Dieser Zusammenhang wird in den folgenden Kapiteln erklärt.

### 3.5.1 Rayleighstreuung

Die Grundlagen der Lichtstreuung an kleinen Teilchen wurden 1871 von Rayleigh erarbeitet. Er untersuchte Gase, bei denen die Teilchen klein im Verhältnis zur Wellenlänge des eingestrahlten Lichtes sind. Die von den Streuzentren ausgehende Streustrahlung wird als

Kugelwelle abgestrahlt. Bei einer Teilchengröße  $d < \frac{\lambda}{20}$  wirkt jedes Molekül als Streuzentrum. Da bei der Streustrahlung alle Teilchen die gleiche Frequenz abstrahlen, kann es zu intermolekularen Interferenzerscheinungen kommen. Wenn die Teilchen einen ausreichend großen Abstand zueinander haben, kann intermolekulare Interferenz ausgeschlossen werden. Dies wird durch eine ausreichende Verdünnung erreicht.

Die Streulichtintensität  $I_\vartheta$  im Winkel  $\vartheta$  zur Lichtquelle und im Abstand  $r$  hängt neben der Intensität  $I_0$  auch von der Vakuumwellenlänge  $\lambda_0$  der Primärstrahlung und der Polarisierbarkeit  $\alpha_{pol}$  (auch Streukraft genannt) des Streuers ab. In der Gleichung 16 wird

---

[110] Raman, C. V., *A new radiation*, in: Indian J. Phys., **1928**, 2, 387

[111] Debye, P., *Light Scattering in Solutions*, in: J. Appl. Phys., **1944**, 15, 338-342

[112] Zimm, B. H., in: Chem. Phys., **1945**, 13, 141

[113] Zimm, B. H., *The Scattering of Light and the Radial Distribution Function of High Polymer Solutions*, in: Journal of Chemical Physics, **1948**, 12, 1093-1116

[114] Arndt, K.-F., Müller, G., *Polymercharakterisierung*, Carl Hanser Verlag, München, **1996**, 115-142

[115] Hoffmann, M., *Polymeranalytik*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1977**, 225-226; 298-307

[53] Kratochvil, P., *Classical Light Scattering from Polymer Solution*, Elsevier, Amsterdam, **1987**

[116] Tieke, B., *Makromolekulare Chemie : Eine Einführung*, VCH, Weinheim, **1997**, 213-219; 224-227

dieser Zusammenhang mathematisch beschrieben. Mit zunehmender Entfernung  $r$  vom Streuzentrum nimmt die Streulichtintensität ab. Die Wellenlänge  $\lambda_0$  der Primärstrahlung geht in die Gleichung mit dem reziproken Exponenten von 4 ein, d.h. kurzwelliges Licht wird stärker gestreut als langwelliges (Tyndall-Effekt).

Auf dieses Phänomen sind die blaue Farbe des Himmels und die roten Sonnenuntergänge (Morgen- und Abendrot) zurückzuführen. Die Färbung entsteht durch die wellenlängenabhängige Streuung des Sonnenlichts an den Stickstoff- und den Sauerstoffmolekülen in der Atmosphäre. Das kurzwellige blaue Licht wird stärker gestreut als das übrige Spektrum des sichtbaren Lichtes, weshalb der Himmel blau erscheint. Bei den roten Sonnenauf- und -untergängen erfolgt die Sonneneinstrahlung in einem kleinen Winkel zur Erdoberfläche, und die Sonnenlichtstrahlen legen einen längeren Weg durch die Atmosphäre zurück. Dadurch werden auch höherwellige Bereiche des Sonnenlichtes gestreut, weshalb nur noch rotes Licht sichtbar ist.

$$I_{\vartheta} = \frac{I_0 \cdot 16 \cdot \pi^4 \cdot \alpha_{Pol}^2}{\lambda_0^4 \cdot r^2} \cdot \left( \frac{1 + \cos^2 \vartheta}{2} \right)$$

Gleichung 16

Ein schwingender Dipol strahlt nur senkrecht zur Dipolachse isotrop. Teilchen mit einem Durchmesser von  $d$  kleiner  $\lambda/20$  zeigen bei vertikal polarisiertem Licht in der horizontalen Ebene keine Winkelabhängigkeit der Intensität. Die Winkelabhängigkeit des Streulichtes ist für vertikal, horizontal und unpolarisiertes Licht in Abbildung 20 dargestellt. Bei unpolarisiertem Licht und ebenso bei horizontal polarisiertem Licht ist eine Winkelabhängigkeit der Streuintensität zu beobachten. Bei vertikal polarisiertem Licht wird in alle Richtungen mit der gleichen Intensität gestreut, weshalb der Term  $(1+\cos^2\vartheta)/2$  gleich eins wird und Gleichung 16 sich zu Gleichung 17 vereinfacht:

$$I_{\vartheta} = \frac{I_0 \cdot 16 \cdot \pi^4 \cdot \alpha_{Pol}^2}{\lambda_0^4 \cdot r^2}$$

Gleichung 17

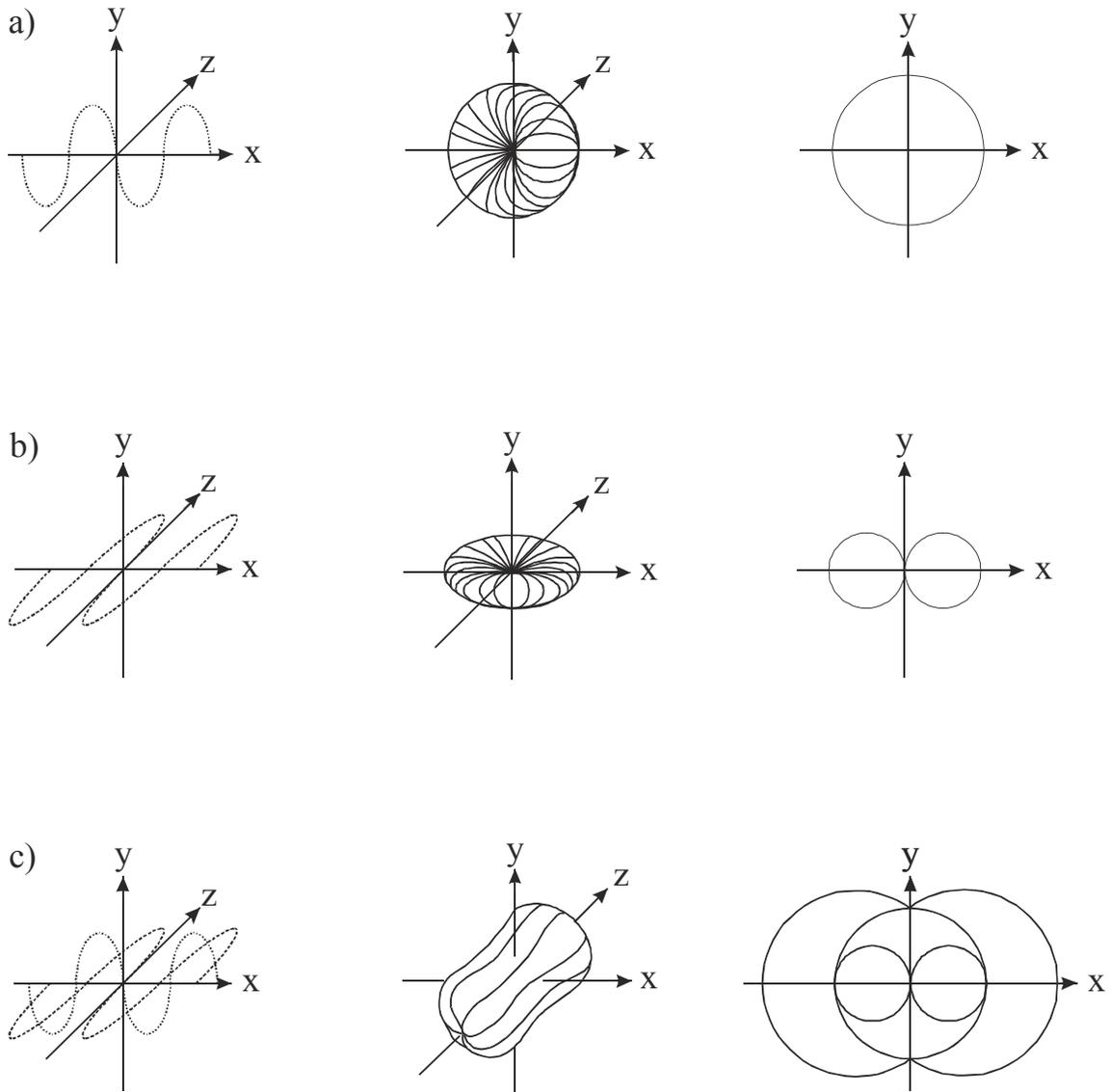


Abbildung 20: Winkelabhängigkeit des Streulichtes für a) vertikal b) horizontal und c) unpolarisiertes Primärlicht.

Die Polarisierbarkeit  $\alpha_{pol}$  bezeichnet die Differenz der Polarisierbarkeit von der Lösung und des reinen Lösungsmittels und ist ein Maß für die Wechselwirkung eines Teilchens mit elektromagnetischen Lichtwellen. Die Polarisierbarkeit ist eine Funktion der Dielektrizitätskonstanten  $\varepsilon$  und im sichtbaren Bereich mit dem Brechungsindex  $n$  der Lösung über  $\varepsilon \approx n^2$  verknüpft. Neben dieser Vereinfachung und dem Ausdruck der Teilchenzahldichte  $N_v$  durch die Konzentration  $c$  und Masse  $M$  erhält man die Gleichung 18:

$$I_{\vartheta} = I_0 \cdot \frac{V_S}{r^2} \cdot \frac{4 \cdot \pi^2 \cdot n_0^2}{\lambda_0^4 \cdot N_L} \cdot \left( \frac{dn}{dc} \right)^2 \cdot c \cdot M$$

Gleichung 18

Sollen die gemessenen Werte geräteunabhängig sein, so muss die gemessene Streulichtintensität  $I_{\vartheta}$  bei einem bestimmten Winkel  $\vartheta$  pro detektiertes Streuvolumen  $V_S$  mit dem Quadrat des Abstands multipliziert und auf die Primärlichtintensität  $I_0$  bezogen werden. Die so erhaltene Größe  $R_{\vartheta}$ , die in Gleichung 19 beschrieben wird, bezeichnet man als Rayleigh-Verhältnis oder reduzierte Streulichtintensität.

$$R_{\vartheta} = \frac{I_{\vartheta} \cdot r^2}{I_0 \cdot V_S}$$

Gleichung 19

Wie von Rayleigh gezeigt wurde, kann die reduzierte Streulichtintensität mit der Molmasse in Beziehung gesetzt werden. Aus den Gleichungen 18 und 19 ergibt sich :

$$R_{\vartheta} = \frac{4 \cdot \pi^2 \cdot n_0^2}{\lambda_0^4 \cdot N_L} \cdot \left( \frac{dn}{dc} \right)^2 \cdot c \cdot M$$

Gleichung 20

Die Gleichung 20 ist auf ein Gas bezogen, in dem alle Teilchen als unabhängige Streuzentren betrachtet werden. Durch Zugabe von weiteren Gasmolekülen erhöht sich die Streuung und somit das Brechungsindexinkrement  $dn/dc$ . In reinen Flüssigkeiten ist das Brechungsindexinkrement unbeeinflusst von der Zugabe weiterer Flüssigkeitsmoleküle, d.h. im Gegensatz zu Gasen erhöht sich bei Zugabe von weiteren Molekülen die Streuung nicht. Einstein und Smoluchowski postulierten, dass in einer Flüssigkeit optische Diskontinuität aufgrund der Brownschen Bewegung entsteht, wodurch lokale Dichtefluktuationen eine Änderung des Brechungsindexinkrements  $dn/dc$  bewirken.

Außerdem treten bei Lösungen von Polymeren oder bei Dispersionen von Feststoffen Konzentrationsschwankungen infolge von Inhomogenität in der Lösung auf. Die durch gelöste Polymere auftretenden Streulichteffekte wurden von Debye beschrieben. Die reduzierte

Streuintensität ist die Differenz aus der reduzierten Streuintensität der Lösung und der des reinen Lösungsmittels und wird Exzess-Rayleigh-Verhältnis bezeichnet (Gleichung 21).

$$R_g = R_g(\text{Lösung}) - R_g(\text{Lösungsmittel})$$

Gleichung 21

Wenn man alle Konstanten der Gleichung 20 zu der optischen Konstante  $K$  zusammenfasst, erhält man in der Gleichung 22 folgenden Ausdruck für das Rayleigh-Verhältnis :

$$R_g = K \cdot c \cdot M$$

Gleichung 22

Streng genommen gilt die Gleichung 22 nur für unendlich verdünnte Lösungen ( $c \rightarrow 0$ ). Bei höheren Konzentrationen wird wie bei dem osmotischen Druck ein Virialansatz entsprechend der Gleichung 23 gewählt.

$$\frac{K \cdot c}{R_g} = \frac{1}{M} + 2 \cdot A_2 \cdot c + 3 \cdot A_3 \cdot c^2 + \dots$$

Gleichung 23

Der zweite Virialkoeffizient  $A_2$  ist eine wichtige thermodynamische Größe für Polymere in Lösung und beschreibt die Wechselwirkung zwischen zwei gelösten Polymerteilchen untereinander sowie zwischen Polymer und Lösungsmittel. Lösungen von breit Verteilten Polymeren bestehen aus Teilchen mit sehr unterschiedlichen Molmassen, sodass der zweite Virialkoeffizient  $A_2$  als ein Mittelwert der unterschiedlichen Wechselwirkungen aufgefasst werden muss. Die Güte eines Lösungsmittels nimmt mit ansteigendem zweiten Virialkoeffizient  $A_2$  zu.

Der dritte Virialkoeffizient  $A_3$  beschreibt die Wechselwirkungen der Polymersegmente untereinander. Bei geringen Konzentrationen wird der Term mit dem dritten Virialkoeffizienten sehr klein und kann vernachlässigt werden. Der Virialansatz wird üblicherweise nach dem zweiten Glied abgebrochen. Bei breit Verteilten Lösungen von Polymeren streuen alle Komponenten mit den Molgewichten  $M_i$  und Konzentrationen  $c_i$  unabhängig voneinander und man erhält folgenden Ausdruck für  $R_g$  in der Gleichung 24 :

$$\lim_{c \rightarrow 0} R_g = K \cdot \sum_i c_i \cdot M_i$$

*Gleichung 24*

Aus der Gleichung 24 erhält man unter Berücksichtigung der Definition von der gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  einer breit Verteilten Polymerlösung die Gleichung 25.

$$\lim_{c \rightarrow 0} K \cdot \frac{c}{R_g} = \frac{\sum_i c_i}{\sum_i c_i \cdot M_i} = \frac{1}{M_w}$$

*Gleichung 25*

### 3.5.2 Debye Streuung

Wenn der Teilchendurchmesser  $d$  der Polymermoleküle größer als  $\lambda/20$  wird, ist auch bei vertikal polarisiertem Primärlicht eine Winkelabhängigkeit der Streulichtintensität  $I_\vartheta$  zu beobachten. Diese Winkelabhängigkeit ist in der Abbildung 21 dargestellt. Bei diesen Moleküldimensionen geht man von mehreren Streuzentren pro Molekül aus. Die Streustrahlung ist kohärent und kann deshalb interferieren.

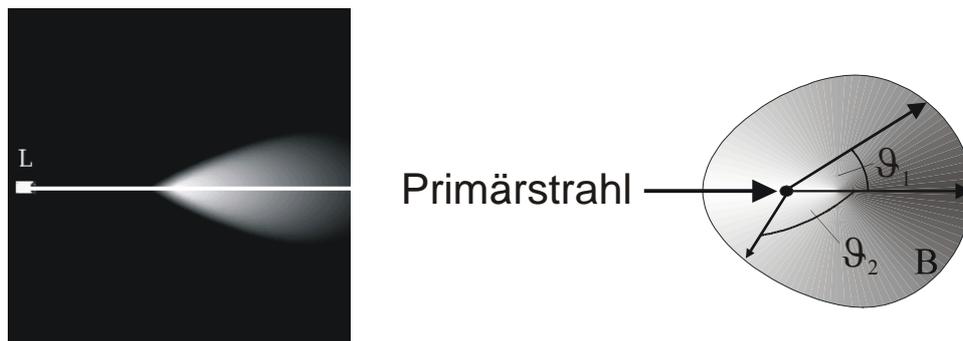


Abbildung 21: Winkelabhängigkeit der Streulichtintensität [117].

Kommt es zu einer intramolekularer Interferenzerscheinung, nimmt die Streuintensität als Folge zunehmender destruktiver Interferenz mit steigendem Streuwinkel ab. Die Interferenz bei einem Winkel  $\vartheta = 0^\circ$  ist gleich null und erreicht ein Maximum bei  $\vartheta = 180^\circ$ .

Die Winkelabhängigkeit des Streulichtes ermöglicht so die Bestimmung der Größe der streuenden Moleküle. Beschrieben wird die Schwächung des Streulichtes als Folge destruktiver Interferenz durch die Partikelstreuungsfunktion  $P_\vartheta$  in der Gleichung 26. Durch deren Einführung in die allgemeine Lichtstreugleichung werden diese Effekte berücksichtigt.

$$\frac{K \cdot c}{R_\vartheta} = \frac{1}{M_w \cdot P_\vartheta} + 2 \cdot A_2 \cdot c$$

Gleichung 26

Die Partikelstreuungsfunktion  $P_\vartheta$  (Gleichung 27) ist definiert als Quotient aus dem gemessenen Exzess-Rayleigh-Verhältnis beim Winkel  $\vartheta$  (molekulare Interferenz) und beim Winkel  $0^\circ$  (keine Interferenz).

[117] Wyatt Technology, *Unterlagen zum Userforum – GPC-LS-Kopplung: Grundlagen und Praxis*, 1999

$$P_g = \frac{R_g}{R_{0^\circ}}$$

Gleichung 27

Bei kleinen Teilchen ist der Quotient aufgrund der Winkelunabhängigkeit immer gleich eins und entfällt. Nach Debye gilt der Zusammenhang in Gleichung 28 für die Partikelstreuung  $P_g$ :

$$P_g = \frac{1}{N^2} \cdot \sum_i \sum_j \frac{\sin(q \cdot r_{ij})}{q \cdot r_{ij}}$$

Gleichung 28

In die Gleichung 28 geht der Abstand  $r_{ij}$  der verschiedenen Streuzentren eines Makromoleküls und der Streuvektor  $q$  ein, der die Winkelabhängigkeit der Partikelstreuung beschreibt. Im Fall kleiner  $qr_{ij}$  kann unabhängig von der Teilchenform durch eine Reihenentwicklung nach der Gleichung 29 die reziproke Form für  $P_g$  abgeleitet werden :

$$\frac{1}{P_g} = 1 + \frac{1}{3} \cdot q^2 \cdot \langle R_G^2 \rangle_z \quad \text{mit} \quad q = \frac{4 \cdot \pi \cdot n_0}{\lambda_0} \cdot \sin\left(\frac{\vartheta}{2}\right)$$

Gleichung 29

### 3.5.3 Doppelextrapolation nach Zimm (Zimm-Diagramm)

Aus den Gleichungen 29 und 26 ergibt sich Gleichung 30, die durch eine Doppelextrapolation nach Zimm ausgewertet werden kann.

$$\frac{K \cdot c}{P_{\vartheta}} = \frac{1}{M_w} + \frac{1}{3 \cdot M_w} \cdot \left( \frac{4 \cdot \pi \cdot n_0}{\lambda_0} \right)^2 \cdot \langle R_G^2 \rangle \cdot \sin^2 \frac{\vartheta}{2} + 2 \cdot A_2 \cdot c$$

Gleichung 30

In einem Zimmdiagramm (Abbildung 22) wird  $k \cdot c / R_{\vartheta}$  gegen  $\sin^2(\vartheta/2) + k \cdot c$  aufgetragen. Aufgrund der sehr kleinen Konzentrationen wird zur Datenauftragung die willkürliche Konstante  $k$  eingeführt. Diese dient nur zur Aufweitung und damit zur besseren Visualisierung der Auftragung.

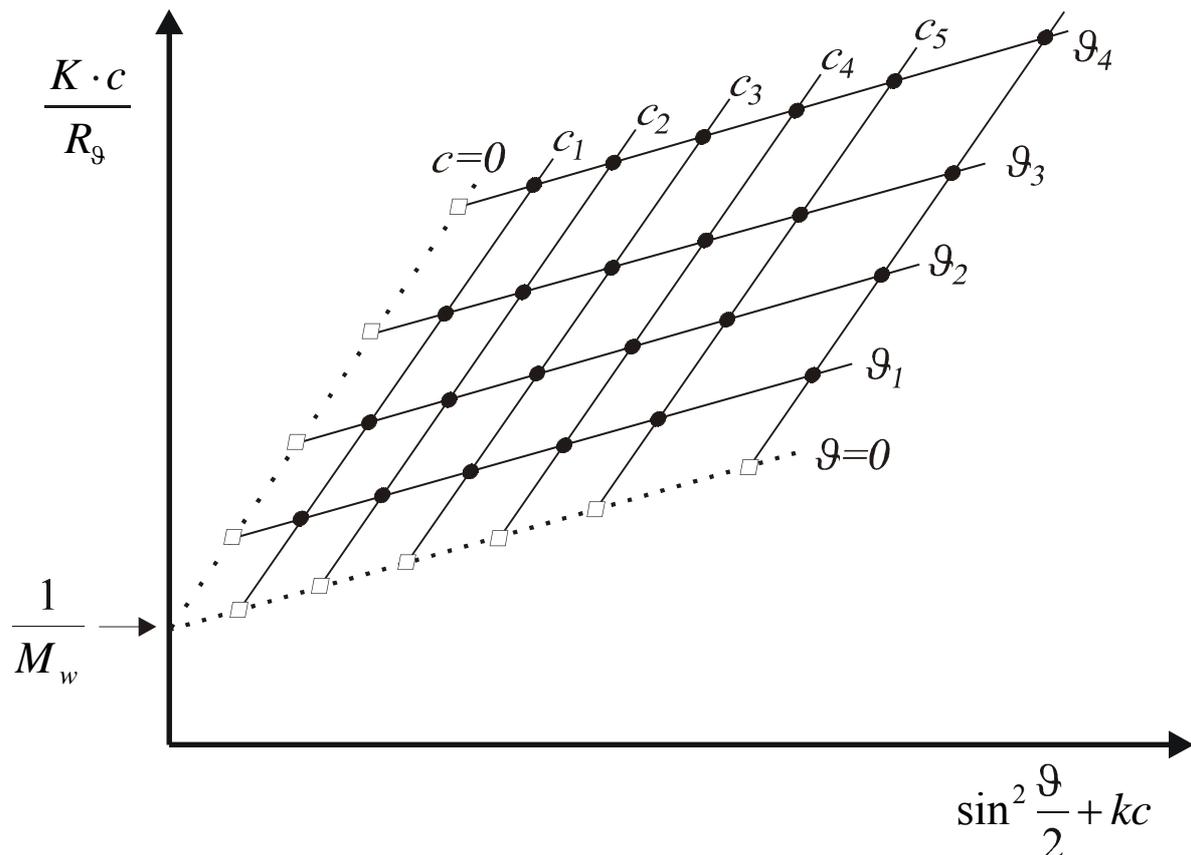


Abbildung 22: Auftragung eines Zimm-Diagramms mit Messwerten (•) und extrapolierten Werten (□).  $M_w$  ergibt sich aus dem Schnittpunkt der extrapolierten Geraden mit der y-Achse.

---

Durch doppelte Extrapolation auf die Konzentration  $c$  gleich null und dem Winkel  $\vartheta$  gleich null erhält man zwei Geraden, die die y-Achse in der reziproken gewichtsmittleren Molmasse  $M_w^{-1}$  schneiden. Aus den Steigungen der extrapolierten Geraden lassen sich der zweite Virialkoeffizient  $A_2$  (Extrapolationsgerade  $\vartheta = 0$ ) und das Quadrat des z-mittleren Gyrationradius  $\langle R_{Gz} \rangle^2$  (Extrapolationsgerade  $c = 0$ ) bestimmen.

Neben der Debye- und der Rayleigh-Streuung gibt es einen weiteren Bereich, für Teilchen, die größer oder gleich der verwendeten Wellenlänge des Lichtes sind, die Mie-Streuung [118]. Ab einer Teilchengröße im Bereich von  $\lambda$  kommt es neben destruktiver auch zu konstruktiver Interferenz zwischen den Streuzentren. Die Winkelabhängigkeit der Streuintensität ist noch komplexer als bei der Rayleigh-Streuung, da die Streulichtverteilung Maxima und Minima um das Streuzentrum aufweisen. In dem Bereich der Mie-Streuung wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht gearbeitet, weshalb darauf nicht näher eingegangen wird.

---

[118] Mie, G., *Beiträge zur Optik trüber Medien spezieller kolloidaler Metallösungen*, in: *Annalen der Physik*, **1908**, 25, 377-445

### 3.5.4 Auswertung der Lichtstreudaten mit der Software ASTRA

In der Lichtstreuenauswertesoftware ASTRA for Windows (Wyatt Technology Corporation, Santa Barbara, USA) gibt es mehrere Auswertungsverfahren die Größen der gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  und des Gyrationradius  $R_{Gz}$  zu ermitteln. Die Methoden zur Auswertung sind Extrapolationen nach Debye, Zimm und Berry.

Untersuchungen zum Einfluss der Auswertungsmethode bestimmt an Polyethyleneoxid *PEO* und durch mathematische Berechnungen von statistischen Knäulen wurden von Andersson et al. durchgeführt. Für Moleküle mit einem Gyrationradius unterhalb von 50 nm ist die Ermittlung methodenunabhängig und erst oberhalb von 100 nm sind Unterschiede festzustellen. Bei sehr großen Molekülen unbekannter Struktur hat sich die Extrapolation erster Ordnung nach Berry am besten bewährt [119].

Nachfolgend sind die verschiedenen Methoden der Auswertung verglichen. Es wurde bei jeder Methode die gleiche Probe und Elutionsposition (Maximum des Lichtstreusignals) verwendet.

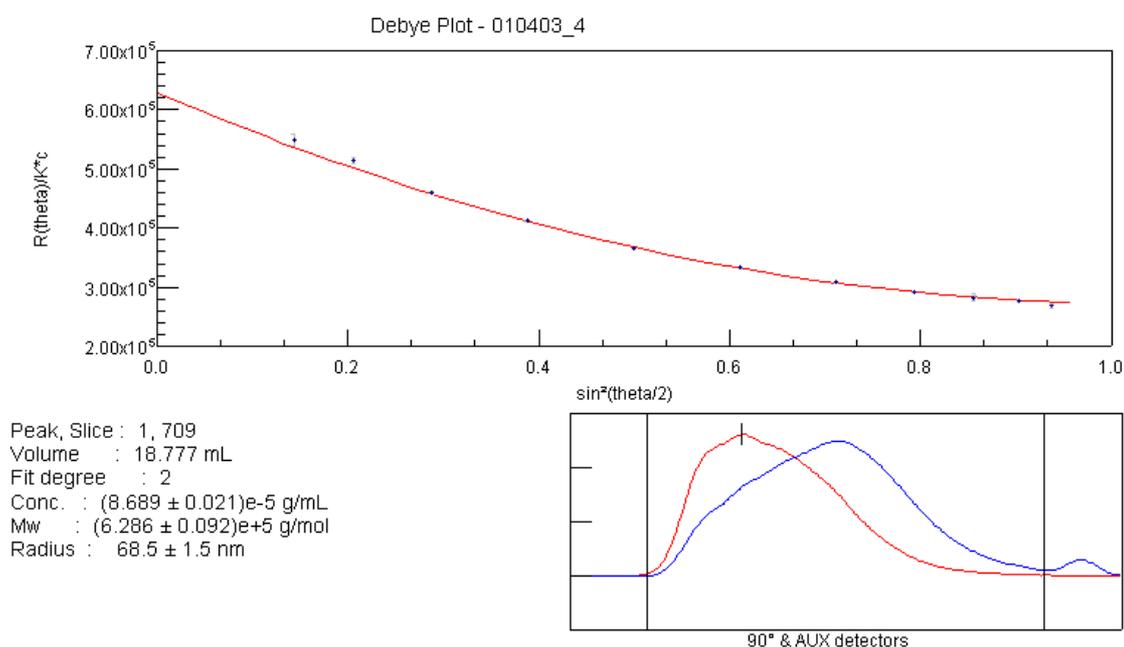


Abbildung 23: Bei der Methode nach Debye wird  $R_{\theta}/K \cdot c$  gegen  $\sin^2(\theta/2)$  aufgetragen.

Die Methode nach Debye (Abbildung 23) benutzt die Auftragung von  $R_{\theta}/K \cdot c$  gegen

[119] Andersson, M., A., Wittgren, B., Wahlund, K.-G., *Accuracy in Multiangle Light Scattering Measurements for Molar Mass and Radius Estimations. Model Calculations and Experiment*, in: *Analytical Chemistry*, **2003**, 75 (16), 4279-4291

$\sin^2(\vartheta/2)$ , die in Gleichung 31 wiedergegeben ist. Der Schnittpunkt mit der Ordinate ist gleich  $M_w$  und die Steigung ist  $(-16\pi^2 M \langle r_{rms} \rangle^2 / 3\lambda^2)$ .

$$\frac{R_\vartheta}{K \cdot c} = M_w \left( 1 - \left( \frac{16\pi^2}{3\lambda^2} \right) \langle r_{rms} \rangle^2 \sin^2 \left( \frac{\vartheta}{2} \right) \right)$$

Gleichung 31

Bei der Extrapolation nach Zimm wird  $K \cdot c / R_\vartheta$  gegen  $\sin^2(\vartheta/2)$  entsprechend Gleichung 32 aufgetragen, was in Abbildung 24 dargestellt ist.

$$\frac{K \cdot c}{R_\vartheta} = \frac{1}{M} + \frac{16\pi^2}{3\lambda^2} \frac{1}{M} \langle r_{rms} \rangle^2 \sin^2 \left( \frac{\vartheta}{2} \right)$$

Gleichung 32

Der Schnittpunkt der Ordinate entspricht  $(1/M_w)$  und die Steigung ergibt sich zu  $(16\pi^2 \langle r_{rms} \rangle^2 / 3\lambda^2 M)$ . Berry nutzt die Auftragung von  $\sqrt{K \cdot c / R_\vartheta}$  gegen  $\sin^2(\vartheta/2)$  und ist besonders für sehr große Moleküle geeignet. Die Auftragung ist in Abbildung 25 wiedergegeben.

$$\sqrt{\frac{K \cdot c}{R_\vartheta}} = \sqrt{\left( \frac{1}{M} + \frac{16\pi^2}{3\lambda^2} \frac{1}{M} \langle r_{rms} \rangle^2 \sin^2 \left( \frac{\vartheta}{2} \right) \right)}$$

Gleichung 33

Die Molmasse ergibt sich dabei aus dem Ordinatenabschnitt zu  $(1/\sqrt{M})$  und die Steigung zu:

$$\frac{1}{2} \frac{\frac{16\pi^2}{3\lambda^2} \frac{1}{M} \langle r_{rms} \rangle^2}{\sqrt{\left( \frac{1}{M} + \frac{16\pi^2}{3\lambda^2} \frac{1}{M} \langle r_{rms} \rangle^2 \sin^2 \left( \frac{\vartheta}{2} \right) \right)}}$$

Gleichung 34

was sich bei  $\sin^2(\vartheta/2) = 0$  zu  $(8\pi^2 \langle r_{rms} \rangle^2 / 3\lambda^2 \sqrt{M})$  vereinfacht. Zusätzlich zu den drei verschiedenen Auswertemethoden kann die Anpassung der Extrapolationsgeraden an die

Winkel von linear bis zu einem Polynom 5ten Grades erfolgen.

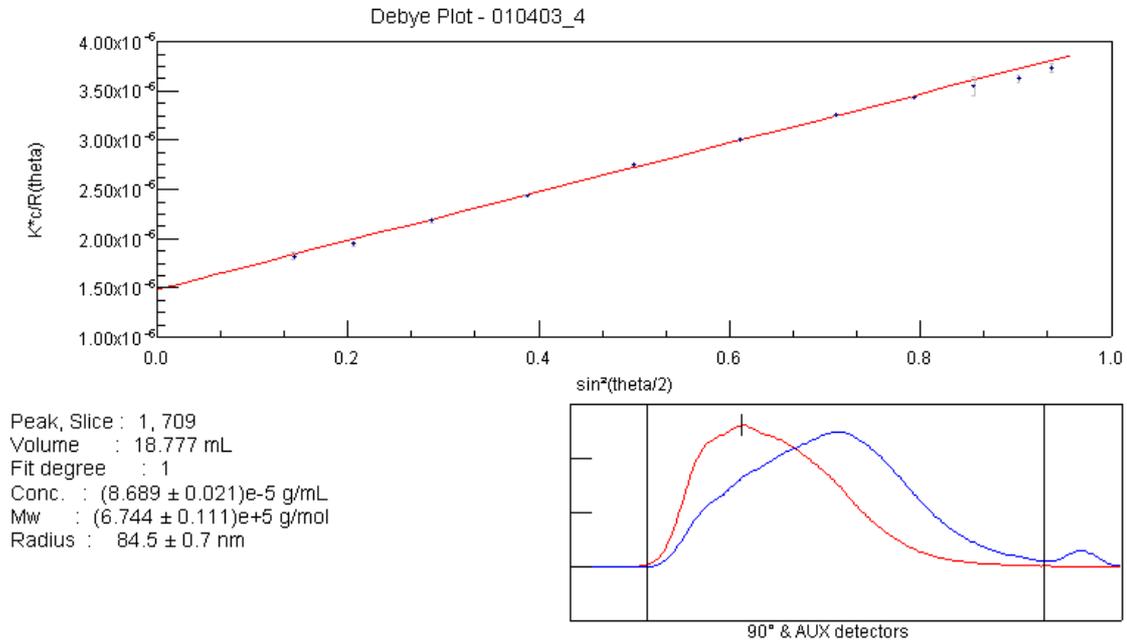


Abbildung 24: Bei der Methode nach Zimm wird  $K \cdot c / R_{\theta}$  gegen  $\sin^2(\theta/2)$  aufgetragen.

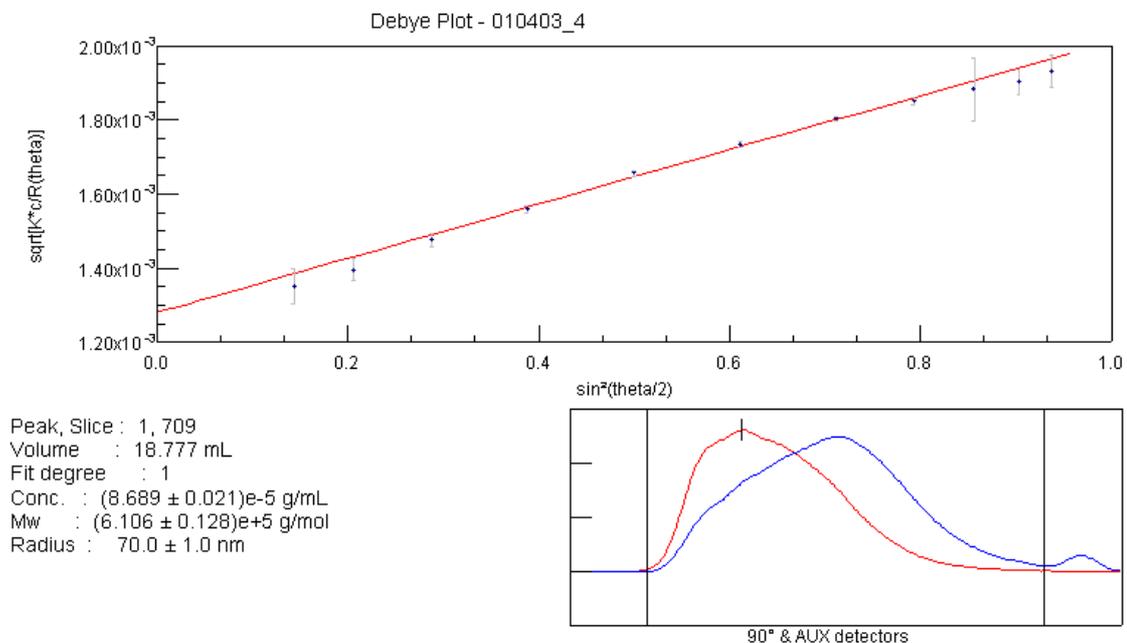


Abbildung 25: Bei der Methode nach Berry wird  $\sqrt{K \cdot c / R_{\theta}}$  gegen  $\sin^2(\theta/2)$  aufgetragen.

### 3.6 Refraktometrie (Brechungsindexinkrement)

Die in dieser Arbeit verwendete kombinierte Anlage besteht neben der Fraktionierungseinheit Grössenausschlusschromatographie und dem Vielwinkellaserlichtstreuphotometer aus einem Konzentrationsdetektor (Refraktometer). Mit Hilfe der Refraktometrie kann die Konzentration einer Polymerlösung aus der Änderung des Brechungsindexes berechnet werden. Die Änderung des Brechungsindexes ist in einem bestimmten Konzentrationsbereich proportional zur Konzentration, was in der Gleichung 35 dargestellt ist.

$$n = n_0 + \left( \frac{dn}{dc} \right)_{p,T,\lambda} \cdot c$$

Gleichung 35

Die Proportionalitätskonstante in der Gleichung 35 ist das Brechungsindexinkrement  $(dn/dc)_{p,T,\lambda}$ , welches vom Druck, der Temperatur und der Wellenlänge abhängig ist. Das Brechungsindexinkrement ist spezifisch für ein Polymer-Lösungsmittelsystem. Wenn das Brechungsindexinkrement eines Polymer-Lösungsmittelsystems bekannt ist, so kann die Konzentration einer Polymerlösung aus dem Brechungsindex berechnet werden.

Es gibt zwei verschiedene Typen von Refraktometern [53] : Zum einen das Differenzialrefraktometer und zum anderen das Interferometer. Das Differenzialrefraktometer besteht aus einer Lichtquelle und einer zweigeteilten Messzelle, was in der Abbildung 26 dargestellt ist.

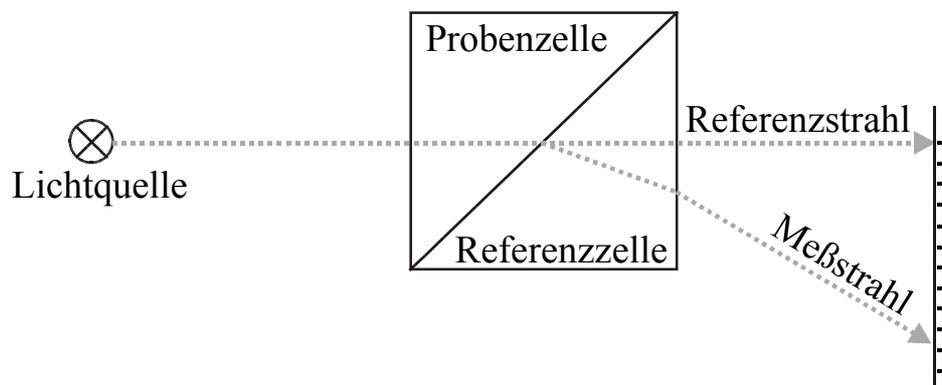


Abbildung 26: Schematischer Aufbau eines Differenzialrefraktometers.

[53] Kratochvil, P., *Classical Light Scattering from Polymer Solution*, Elsevier, Amsterdam, 1987

In der einen Halbzelle befindet sich die Referenzlösung (reines Lösungsmittel) und in der anderen Halbzelle befindet sich die Polymerlösung. Gemessen wird die Ablenkung des Lichtstrahls zum Referenzlichtstrahl. Die Größe der Ablenkung ist proportional zu  $\Delta n$ .

Bei einem Interferometer wird ein monochromatischer polarisierter Lichtstrahl in einem Wollastonprisma in zwei Strahlen mit orthogonalen Schwingungsebenen gleicher Intensität zerlegt. Der eine Strahl geht durch die Referenzzelle der andere durch die Probenzelle. Unterscheiden sich die Brechungsindizes in der Referenzzelle und in der Messzelle entsteht daraus eine Phasenverschiebung, da die beiden Strahlen einen unterschiedlich langen optischen Weg zurücklegen. In einem zweiten Wollastonprisma werden die beiden Strahlen rekombiniert und man erhält elliptisch polarisiertes Licht. Der Strahl geht auf seinem Weg zum Detektor durch ein  $\lambda/4$ -Plättchen, einen Analysator und einen Filter. Der Aufbau eines Interferometers ist in Abbildung 27 aufgeführt. Gemessen wird die Intensitätsschwächung aufgrund der Phasenverschiebung, die proportional zu  $\Delta n$  ist [120] .

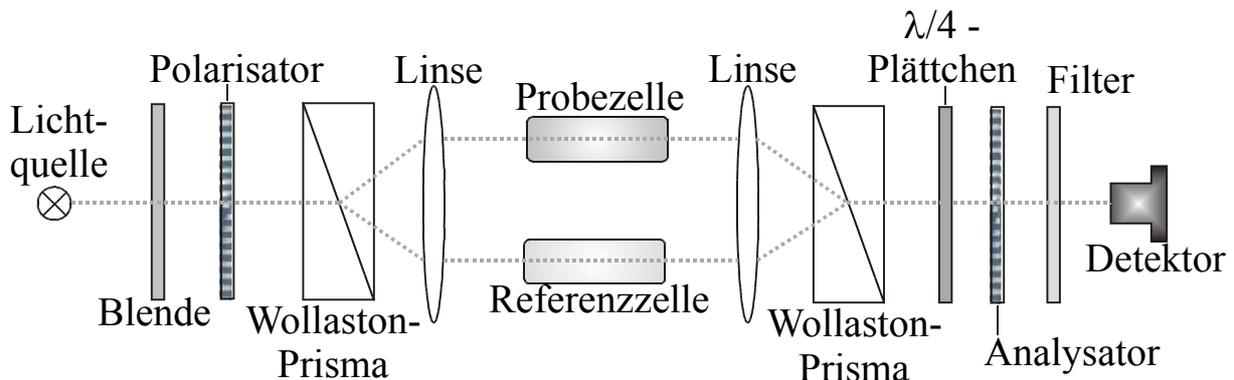


Abbildung 27: Schematischer Aufbau eines Interferometers.

Für wasserlösliche Polymere liegen jedoch nur wenige Brechungsindexinkremente in der Literatur [121] vor, sodass das Brechungsindexinkrement bestimmt werden musste.

[120] Wyatt Technology Corporation, *The Optilab DSP*, Technische Dokumentation, **1995**

[121] Brandrup, J., Immergut, E. H., Grulke, E. A., *Polymer Handbook*, Wiley, New York, **1999**

### 3.7 Viskosimetrie

Die Viskosimetrie ist eine der grundlegenden analytischen Methoden für die Charakterisierung der Struktur und der Eigenschaften von Polymeren und Polymer-Lösungsmittel-Systemen und wird deshalb in vielen Bereichen der Industrie eingesetzt [122]. Die Viskosität einer Polymerlösung wird nicht allein durch die Molmasse bestimmt, sondern ist auch abhängig von der Konzentration, dem Lösungsmittel, der Temperatur und der Art und Zusammensetzung des Polymers.

Die viskosimetrische Charakterisierung beruht auf der viskositätserhöhenden Wirkung durch die meist fadenförmigen Makromoleküle, die in einer Lösung eine Knäuelstruktur annehmen. Im zeitlichen Mittel wird so ein konstanter kugelförmiger Raum als Knäuel eingenommen, der im Wesentlichen die viskositätserhöhende Eigenschaft ausmacht.

Die Viskosität  $\eta$ , d.h. Die innere Reibung eines Fluids, ist dabei definiert als (Gleichung 36):

$$\eta = \frac{\sigma_{21}}{\dot{\gamma}}$$

Gleichung 36

wobei die Schubspannung über  $\sigma_{21} = F/A$  und die Schergeschwindigkeit über  $\dot{\gamma} = dV/dh$  definiert ist. Die Grundlagen zur Theorie stammen von Einstein [123], [124]. Danach ist die relative Viskositätserhöhung  $\eta_{rel}$  nur vom Volumenanteil  $\Phi$  des gelösten Makromoleküls abhängig, wenn es keine intermolekulare Wechselwirkungen gibt. Für dispergierte Vollkugeln wurde folgender Zusammenhang nach Gleichung 37 postuliert.

$$\eta_{rel} = \frac{\eta_{Lösung}}{\eta_{Lösungsmittel}} = 2,5 \cdot \Phi + 1$$

Gleichung 37

[122] Kulicke, W.-M., Clasen, C., *Viscosimetry of Polymers and Polyelectrolytes*, Springer Verlag, Berlin, **2004**

[123] Einstein, A., *Eine neue Bestimmung der Moleküldimension*, in: Ann. Phys., **1906**, *19*, 289–306

[124] Einstein, A., *Berichtigung zu meiner Arbeit : Eine neue Bestimmung der Moleküldimension*, in: Ann. Phys., **1911**, *34*, 591-592

Der Volumenanteil  $\Phi$  kann dabei durch die Polymermasse  $m_{\text{Polymer}}$  und die Polymerdichte  $\rho_{\text{Polymer}}$  ohne eingeschlossene Lösungsmittelmoleküle beschrieben werden.

$$\Phi = \frac{V_{\text{Polymer}}}{V_{\text{Lösung}}} = \frac{\left( \frac{m_{\text{Polymer}}}{\rho_{\text{Polymer}}} \right)}{V_{\text{Lösung}}} = \frac{c}{\rho_{\text{Polymer}}}$$

Gleichung 38

Für die relative Viskosität ergibt sich dann die Gleichung 39 in der sie proportional zur Polymerkonzentration durch die Polymerdichte  $\rho_{\text{Polymer}}$  ohne eingeschlossene Lösungsmittelmoleküle ist.

$$\eta_{\text{rel}} = 2,5 \cdot \frac{c}{\rho_{\text{Polymer}}} + 1$$

Gleichung 39

Die spezifische Viskosität  $\eta_{\text{spez}}$  ergibt sich aus der relativen Viskosität  $\eta_{\text{rel}}$  über folgenden Zusammenhang.

$$\eta_{\text{spez}} = \eta_{\text{rel}} - 1$$

Gleichung 40

In realen, verdünnten Lösungen kommt es aufgrund der Brown'schen Molekularbewegung und durch anliegende Scherfelder zu kurzzeitigen Wechselwirkungen zwischen den Polymereknäulen. Erst in einer ideal verdünnten Lösung mit einer Polymerkonzentration von  $c \rightarrow 0$  werden intermolekulare Wechselwirkungen unterbunden und das Einzelmolekül wechselwirkt nur mit dem reinen Lösungsmittel. Zusätzlich hängt die Viskosität von der anliegenden Schergeschwindigkeit  $\dot{\gamma}$  ab, was die Bestimmung bei einer Schergeschwindigkeit von  $\dot{\gamma} \rightarrow 0$  fordert. Der durch diese Extrapolation in Gleichung 41 ermittelte Grenzwert  $[\eta]$  ist der Staudingerindex.

$$[\eta] = \lim_{\substack{c \rightarrow 0 \\ \dot{\gamma} \rightarrow 0}} \frac{\eta_{\text{spez}}}{c} = \frac{2,5}{\rho_{\text{Polymer}}}$$

Gleichung 41

Der Staudingerindex  $[\eta]$  ist ein Maß für die Volumenbeanspruchung des einzelnen Polymerknäuels in einer ideal verdünnten Lösung. Die viskositätserhöhende Eigenschaft der Polymerknäule kann durch eine Potenzreihenentwicklung nach Huggins in Gleichung 42, die nach dem zweiten Term abgebrochen wird, beschrieben werden.

$$\frac{\eta_{\text{spez}}}{c} = [\eta] + k_H \cdot [\eta]^2 \cdot c$$

Gleichung 42

Bei der experimentellen Ermittlung des Staudingerindex  $[\eta]$  werden von einer Konzentrationsreihe des Polymers die spezifischen Viskositäten ermittelt. Durch eine Auftragung (Huggins Plot) von  $\eta_{\text{spez}}/c$  gegen die Konzentration  $c$  kann der Staudingerindex durch Extrapolation auf  $c \rightarrow 0$  aus dem Ordinatenabschnitt ermittelt werden. Die Hugginskonstante  $k_H$  kann aus der Steigung der Geraden bestimmt werden. Der Wert der Hugginskonstante  $k_H$  ist für ein Polymer-Lösungsmittelsystem konstant und unabhängig von der Molmasse des Polymers. Mit Hilfe der Hugginskonstante  $k_H$  kann deshalb für ein gegebenes Polymer-Lösungsmittelsystem der Staudingerindex mit einer einzigen Messung bestimmt werden. Die Steigung  $k_H [\eta]^2$  aus der Auftragung nach Huggins entspricht dem zweiten Virialkoeffizienten  $A_2$  aus der Gleichung für den osmotischen Druck und stellt somit ein Maß für die Lösungsmittelgüte da.

Durch die Abhängigkeit des Staudingerindex von der Molmasse des Polymers ist aus einer viskosimetrischen Messung, bei einer gegebenen Mark-Houwink-Beziehung ( $[\eta]$ - $M$ -Beziehung siehe Gleichung 43), auch die Molmasse zugänglich. Die Konstante  $K_{[\eta]}$  und der Aufweitungsparameter  $a$  sind nicht theoretisch zu berechnen, sondern müssen experimentell ermittelt werden. Diese Struktur-Eigenschafts-Beziehungen sind für bestimmte Polymer-

Lösungsmittelsysteme bestimmt worden und in der Literatur tabelliert [121].

$$[\eta] = K_{[\eta]} \cdot M^a$$

Gleichung 43

Aus dem Staudingerindex kann aufgrund der theoretischen Ableitungen zur Viskosimetrie die kritische Polymerkonzentration  $c^*_{[\eta]}$  nach Gleichung 44 berechnet werden. Die kritische Polymerkonzentration  $c^*_{[\eta]}$  entspricht der Konzentration, ab der die Lösung vollständig mit Polymerknäulen erfüllt ist und die Polymerknäule anfangen sich zu berühren. Somit ist sie ein Grenzwert für den Übergang von der verdünnten zur mäßig konzentrierten Lösung. Dieser Übergang ist deshalb so wichtig, weil hier eine starke Änderung in den Eigenschaften der Polymerlösung aufgrund von erhöhten intermolekularen Wechselwirkungen erfolgt. Dies ist anwendungsrelevant, da praktisch alle industriellen Anwendungen oberhalb der kritischen Polymerkonzentration  $c^*_{[\eta]}$  liegen.

$$c^*_{[\eta]} = \frac{m_{\text{Polymer}}}{V_{\text{Lösung}}} = \rho_{\text{Polymer}} = \frac{2,5}{[\eta]}$$

Gleichung 44

Aus Lichtstreuungsmessungen kann bei der Kenntniss der Molmasse und der Teilchengröße auch die kritische Polymerkonzentration  $c^*_{LS}$  mit der Gleichung 45 berechnet werden.

$$c^*_{LS} = \frac{1,31 \cdot 10^{-25} \cdot M}{R_G^3}$$

Gleichung 45

Die Werte für die kritischen Polymerkonzentrationen  $c^*_{LS}$  sind kleiner als  $c^*_{[\eta]}$  und unterscheiden sich bei realen Systemen um einen bestimmten Faktor (ca. 10).

---

[121] Brandrup, J., Immergut, E. H., Grulke, E. A., *Polymer Handbook*, Wiley, New York, 1999

### 3.8 Ultraschalldegradation

Im Jahr 1933 wurde von Flosdorf et al. [125] die Beobachtung gemacht, dass sich die Viskosität einer Stärkelösung durch Ultraschallbehandlung verringert. Bei der Ultraschalldegradation von Polymermolekülen in Lösung wird mit Schallwellen hoher Intensität gearbeitet. Die Degradation erfolgt nicht durch die direkte Einwirkung der Ultraschallwellen auf das Polymermolekül, sondern durch die induzierten Kavitationsblasen [126]. In Flüssigkeiten kommt es bei höheren Schallintensitäten zur Bildung von Gasblasen bzw. Kavitationsblasen aufgrund gelöster Gase oder durch lokale Verdampfung von Lösungsmittel. Diese Kavitationsblasen kollabieren schlagartig (Kavitation) im Mikrosekundenbereich, wobei lokal kurzzeitig extreme Drücke bis zu 200 bar und Temperaturen bis zu 5000 K auftreten [127]. Durch die Implosion der Kavitationsblasen treten hohe Scherraten bis zu  $10^7 \text{ s}^{-1}$  auf [128]. Der Polymerkettenbruch kommt durch die hohen Scherkräfte aufgrund der Implosion der Kavitationsblasen zustande. Die Degradation erfolgt nicht statistisch, sondern durch Kettenbrüche im Molekülschwerpunkt [128], [129], [130].

Die Degradationsgeschwindigkeit ist abhängig von der Molmasse. Große Polymermoleküle werden schneller als kleinere Polymermoleküle degradiert, da diese die auftretenden Kräfte besser akkumulieren können. Die Degradation erfolgt mit einer exponentiellen Abnahme der Molmasse mit der Zeit, was in der Abbildung 28 schematisch dargestellt ist.

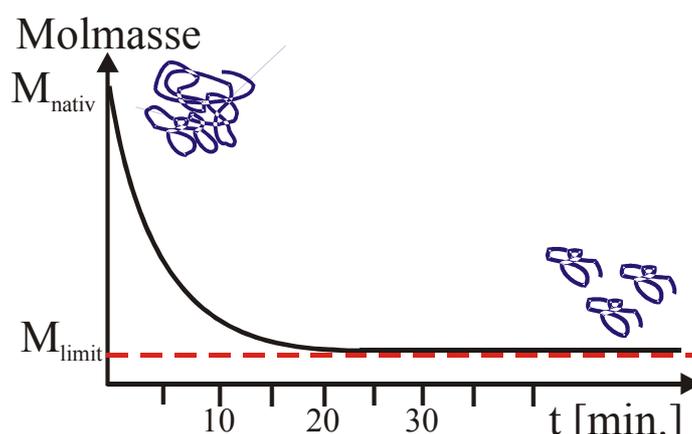


Abbildung 28: Exponentielle Abnahme der Molmasse mit der Beschallungszeit.

[125] Flosdorf, E. W., Chambers, L. A., in: J. Am. Chem. Soc., **1933**, 55, 3051

[126] Basedow, A. M., Ebert, K. H., *Ultrasonic Degradation of Polymers in Solution*, in: Adv. Polym. Sci., **1977**, 22, 83-148

[127] Didenko, Y. T., McNamara III W. B., Suslick, K. S., in: Nature, **2000**, 407, 877-879

[128] Nguyen, T. Q., Liang, Q. Z., Kausch, H.-H., in: Polymer, **1997**, 38, 3783-3793

[129] Milas M., Rinaudo, M., Tinland B., in: Carbohydr. Polym., **1986**, 6, 95

[130] Malhotra, S. L., *Ultrasonic degradation of hydroxypropylcellulose solutions in water, ethanol and tetrahydrofuran*, in: J. Macromol. Sci., Chem., **1982**, A17 (4), 601-636

Charakteristisch ist das Auftreten eines Grenzmolekulargewichtes, welches polymerspezifisch ist. Ultraschall vermag also, Polymere zu degradieren, ohne den chemischen und polymeren Charakter der Probe zu beeinflussen, d.h. es können homologe Reihen in Bezug auf die Molmasse hergestellt werden. Kulicke et al. [131] bewies, dass sogar voluminöse Seitengruppen (Acetyl- und Pyruvatgruppen) im Xanthan nicht abgespalten werden und auch keine Oligomere oder Monomere entstehen. Die Theorie zur Ultraschalldegradation wird mit dem Bead-rod-Modell (Kugel-Stab-Modell) beschrieben. In der Lösung liegt die Polymerkette als statistisches Knäuel vor. Aufgrund der Kraft der Dehnung durch die kollabierenden Kavitationsblasen wird die Polymerkette schonend gestreckt, weil das hydratisierte Molekül den Dehnströmvorgang über die Hydrathülle erfährt und dies nur im Gleichgewicht zwischen zwei Kavitationsblasen zu einer Streckung führt. Nur in diesem Fall und wenn die Kraft der Dehnung größer ist als die Bindungskraft, wird das Polymer im Molekülschwerpunkt zerrissen. Dieser Vorgang ist schematisch in der Abbildung 29 aufgeführt.

Die Dehngeschwindigkeit  $d\varepsilon/dt$  kann aus dem Abstand  $r$  der Polymerkette zum Kavitationszentrum, der Geschwindigkeit  $dR/dt$  der Blasenwand und dem Radius  $R$  der Blase nach Gleichung 46 ermittelt werden [132].

$$\frac{d\varepsilon}{dt} = -2 \cdot \frac{R^2}{r^3} \frac{dR}{dt}$$

Gleichung 46

Die Dehnkraft  $F_c$  die auf das Molekülzentrum wirkt [133], wird in der Gleichung 47 beschrieben. Die Kraft ist abhängig vom Radius  $a$  des Polymerknäuels, der Länge  $b$  der Wiederholungseinheit entlang der Kette, der Anzahl  $n$  der Wiederholungseinheiten, dem shielding Faktor  $S$ , der Lösungsmittelviskosität  $\eta$ , und der Dehngeschwindigkeit  $d\varepsilon/dt$ .

$$F_c = \frac{6 \cdot \pi}{8} \eta \cdot a \cdot b \cdot S \frac{d\varepsilon}{dt} n^2$$

Gleichung 47

[131] Kulicke, W.-M., Otto, M., Baar, A., *Improved NMR characterisation of high-molecular-weight polymers and polyelectrolytes through the use of preliminary ultrasonic degradation*, in: Makromol. Chem., **1993**, 194, 751 - 765

[132] Argarwal, U. S., in: e-Polymers, **2002**, 14, 1-15

[133] Odell, J. A., Keller, A., in: J. Pol. Sci. B, **1986**, 24, 1889-1916

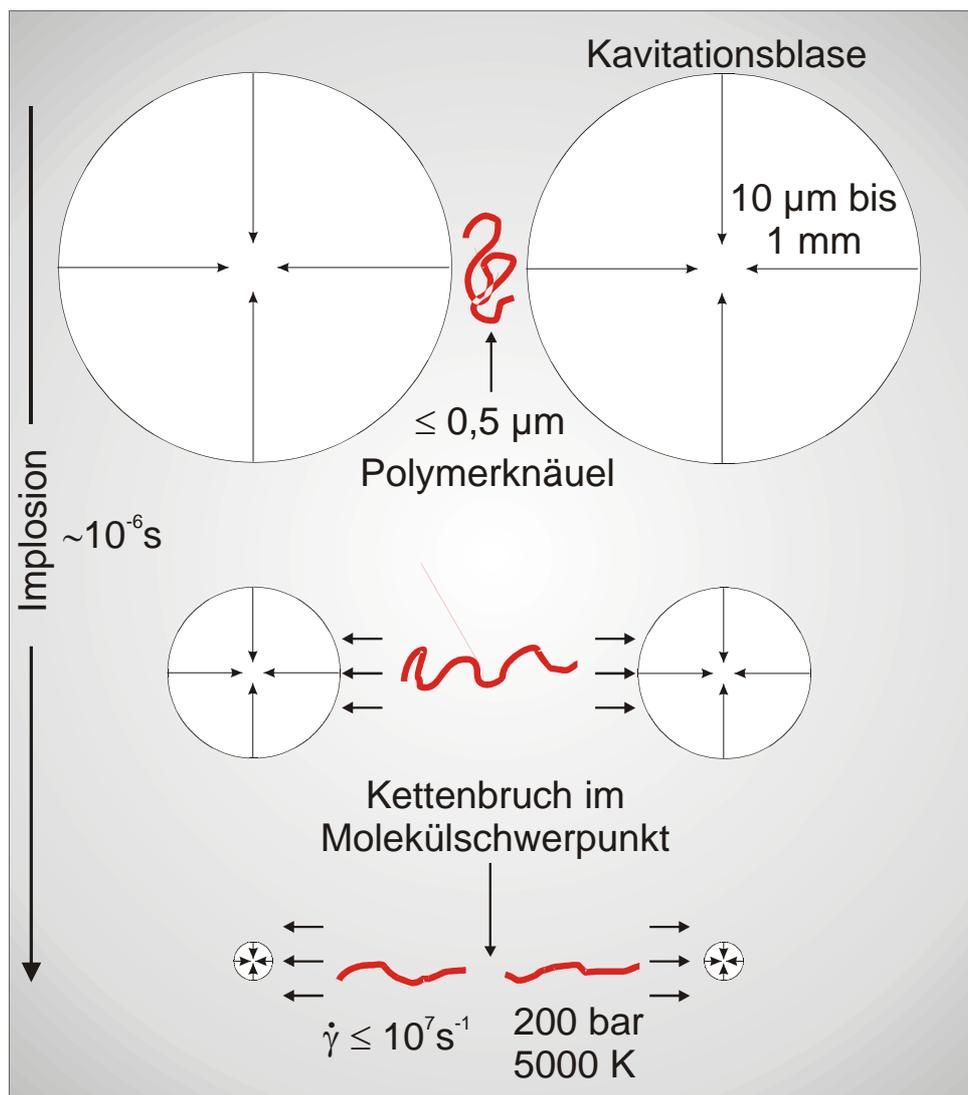


Abbildung 29: Schematische Darstellung der Ultraschalldegradation. Durch die Implosion der Kavitationsblasen im Mikrosekundenbereich ( $t \sim 10^{-6}$  s,  $p \leq 200$  bar,  $T \leq 5000$  K,  $\dot{\gamma} \leq 10^7 \text{ s}^{-1}$ ) wird das Polymer gedehnt und es erfolgt ein Kettenbruch im Molekülschwerpunkt. Die Zeitdauer der Degradation ist kurz und das Grenzmolekulargewicht wird innerhalb von ca. 20 Minuten erreicht.

Der Hauptparameter für den Degradationsprozess ist die Dehngeschwindigkeit resultierend aus der Kavitation und der Implosionszeit. Zur Beschreibung der dynamischen Bewegung einer Kavitationsblase kann das Kyuichi-Yasui Modell [134] verwendet werden, welches auf der Rayleigh-Plesset Gleichung basiert. Die Degradationsrate und das Grenzmolekulargewicht sind dabei abhängig von dem Polymertyp, der Polymerkonzentration, dem Lösungsmittel, der Flüssigkeitstemperatur und dem akustischen Druck.

[134] Yasui, K. J., in: J. Acoust. Soc. Am., **1995**, 98, 2772-2782

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Überprüfung der Methode mit Standards

Um die kombinierte Anlage *SEC/MALLS/RI* zu normieren, zu überprüfen und sich grundlegend in die Auswertung der Daten aus der kombinierten Anlage einzuarbeiten, wurden Standards vermessen. Dabei wurden drei verschiedene Systeme charakterisiert. Ein molekular einheitliches (Rinderserum Albumin *BSA*), ein verzweigtes (Dextrane) und ein lineares (Pullulane) System. Die Hersteller gaben zu den Standards verschiedene molekulare Parameter mit den jeweiligen Bestimmungsmethoden an.

#### 4.1.1 Rinderserum Albumin *BSA*

Das Rinderserum Albumin *BSA* (*Bovine Serum Albumin*) wird aus Rinderblut gewonnen und hat aufgrund der bestimmten Aminosäuresequenz eine definierte Molmasse und Größe. Die Molmasse beträgt 68.000 g/mol und der Trägheitsradius in verdünnter Salzlösung bei 25°C 2,98 nm. Es wurde das Albumin der Firma Merck (Albumin Fraktion 5, Best. Nr. 1.12018.0025,  $M = 68.000$  g/mol bei pH 6,8 bis 7,2) verwendet und als Lösungs- und Elutionsmittel wurde 0,1 M  $\text{NaNO}_3$ -Lösung verwendet. Zur Bestimmung wurde ein Brechungsindexinkrement  $dn/dc$  von 0,170 ml/g angewendet. Im Elutionsdiagramm in Abbildung 30 ist das Konzentrationssignal und der Molmassenverlauf dargestellt. Beim Albumin kann es zur Zusammenlagerung von Molekülen aufgrund von Ladungen im Molekül kommen weshalb von einem Monomer für das Einzelmolekül und Di- und Trimer für 2 bzw 3 Moleküle gesprochen wird. Der Hauptpeak zwischen 36 und 39 ml Elutionsvolumen ist das Monomer, was deutlich sowohl im 90°-Lichtstreusignal, wie auch im Konzentrationssignal zu sehen ist. Der Molmassenverlauf ist hier waagrecht, ein so genanntes Plateau, was durch Bandenverbreiterung zustande kommt. Die Auswertung ergab eine gewichtsmittlere Molmasse für das Monomer von 67.500 g/mol, was gut mit der Vorgabe übereinstimmt. Im Bereich zwischen 35 und 36 ml zeigt das Konzentrationssignal eine kleine Schulter, die ausgeprägter im Lichtstreusignal vorhanden ist. Das Signal unter 35 ml was im Lichtstreusignal deutlich zu sehen ist, kann im Konzentrationssignal nicht gefunden werden. Die Schulter zwischen 35 und 36 ml entsprach mit 182.000 g/mol nicht dem theoretischen Wert von 132.000 g/mol für ein Dimer oder 198.000 g/mol für ein Trimer, außerdem lag hier

kein Plateau vor, sondern die Molmasse fiel zu höheren Elutionsvolumen ab.

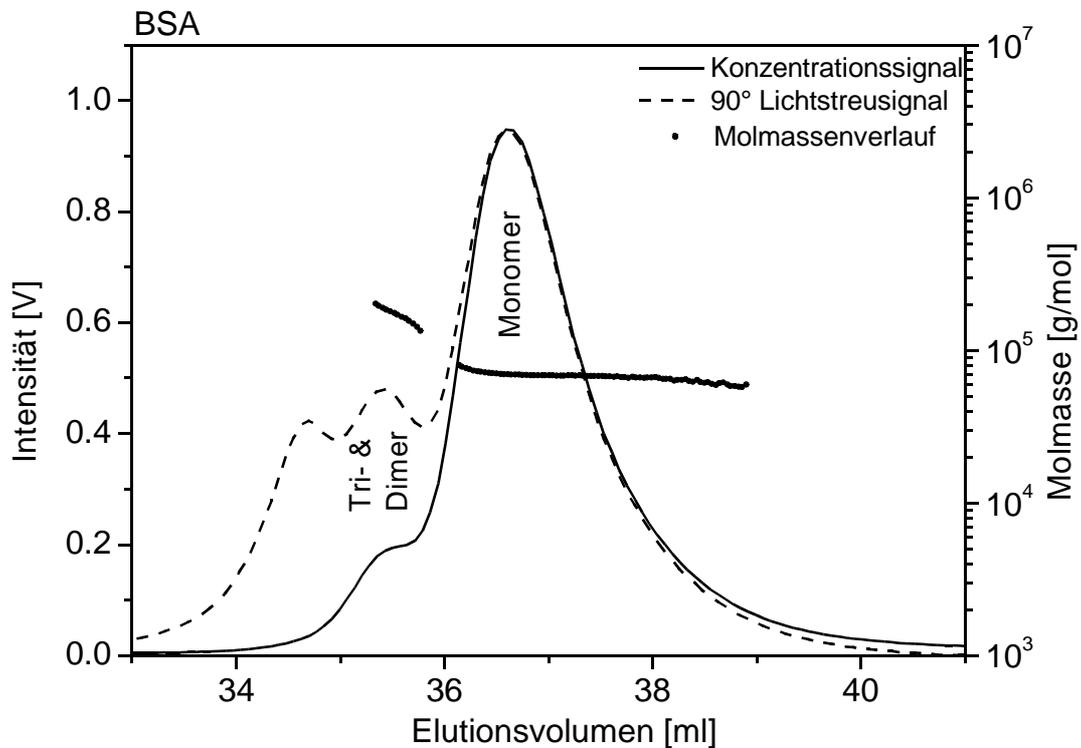


Abbildung 30: Elutionsdiagramm vom Rinderserum Albumin BSA. Dargestellt sind das 90°-Lichtstreuungssignal, das Konzentrationssignal und der Molmassenverlauf.

Die Aggregate aus Di- und Trimer wurden nicht vollständig fraktioniert. Dieses ist auch am Molmassenverlauf zu erkennen. Die Software lieferte bei 35,8 ml eine Molmasse von 133.000 g/mol und bei 35,3 ml von 202.000 g/mol, was sehr gut mit den theoretischen Werten übereinstimmt. Das Signal unter 35 ml Elutionsvolumen konnte aufgrund des schwachen Konzentrationssignals nicht näher ausgewertet werden, hier sind größere Teilchen in sehr geringen Konzentrationen vorhanden. Unter denselben Bedingungen wurde BSA von Heins [135] mit der asymmetrischen Fluss Feld-Fluss-Fraktionierung untersucht und zeigte eine gute Übereinstimmung der Messwerte (64.000 g/mol, 129.000 g/mol und 186.000 g/mol). Die asymmetrische Fluss Feld-Fluss-Fraktionierung ermöglichte sogar eine Auftrennung des Di- und Trimers. Mit der Albumin Messung erfolgte auch gleichzeitig die Bestimmung des Inter-Detektor-Delays.

[135] Heins, D., *Charakterisierung von Stärkederivaten mittels Größenausschlusschromatographie, Fluss-Feldfluss-Fraktionierung und Lichtstreuung*, Dissertation Universität Hamburg, 2000

### 4.1.2 Dextrane

Dextrane sind wasserlösliche, neutrale und verzweigte Exopolysaccharide, die von dem Bakterienstamm *Leuconostoc* (*Leuconostoc mesenteroides* und *Leuconostoc dextranicum*) in einem Fermentationsprozess aus Saccharose aufgebaut werden. Die Hauptkette ist dabei  $\alpha$ -(1,6)-glykosidisch verknüpft und es treten  $\alpha$ -(1,3)-Verzweigungen auf. Dextrane werden technisch hergestellt und finden Verwendung in der Medizin als Blutplasmaersatzmittel (siehe Kapitel Blutplasmaersatzmittel) oder als Trägersubstanzen für Pharmazeutika. In der Flüssigchromatographie dienen sie als Polymerstandard zur Kalibrierung und als Säulenfüllmaterialien (siehe Kapitel Größenausschlusschromatographie) für die Größenausschlusschromatographie. Des Weiteren werden sie noch in der Papier-, Textil- und Kosmetikindustrie eingesetzt [8]. Die Struktur von Dextran ist in Abbildung 31 schematisch dargestellt und beinhaltet einen Ausschnitt der  $\alpha$ -(1,6) verknüpften Hauptkette mit einer  $\alpha$ -(1,3) verknüpften Verzweigung, die wiederum  $\alpha$ -(1,6) verknüpft fortläuft.

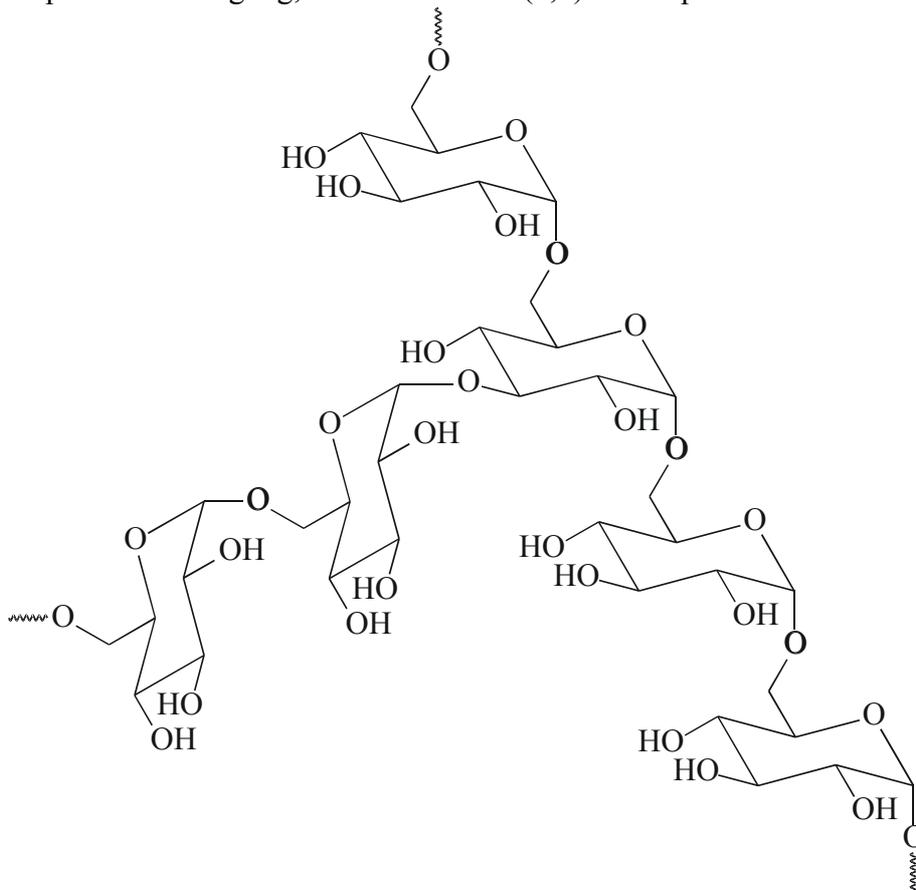


Abbildung 31: Dextranstruktur mit  $\alpha$ -(1,6)- verknüpfter Hauptkette und  $\alpha$ -(1,3) verknüpfter Verzweigung.

[8] CD Römpp Chemie Lexikon, Thieme Verlag, Stuttgart 1995

Es wurden zehn Dextrane der Firma Pharmacosmos (Pharmacosmos, Dänemark) mittels kombinierter Anlage aus Größenausschlusschromatographie, Vielwinkellaserlichtstreuophotometer und Konzentrationsdetektor charakterisiert. Die Herstellerangaben über die Molmassen und die Polymolekularitätsindizes der Dextrane sind in Tabelle 10 zusammengefasst. Die Daten wurden vom Hersteller mittels relativer GPC, Endgruppentitration EGT und statischer Kleinwinkellaserlichtstreuung LALLS im Batchmodus ermittelt. Zusätzlich zur Molmasse lieferte der Hersteller auch noch die Angabe der Staudingerindizes  $[\eta]$  bei 25°C.

*Tabelle 10 : Herstellerangaben (Pharmacosmos, Dänemark) zu den Dextranstandards. Diese wurden per Gel Permeation Chromatography (GPC), Reducing End Group Titration (EGT), Viskosimetrie bei 25°C ( $[\eta]$ ) und Low Angle Laser Light Scattering (LALLS) bestimmt.*

<i>Probe</i>	$M_{p,GPC}$	$M_{w,GPC}$	$M_{n,GPC}$	$(M_w/M_n)$ GPC	$[\eta]$	$M_{w,LALLS}$	$M_{n,EGT}$	$(M_w/M_n)$ LALLS/EGT
DEX1	1.080	1.270	1.010	1,26	4,4	0	1.034	k.A.
DEX5	4.440	5.220	3.260	1,6	7,8	5.700	3.326	1,71
DEX12	9.890	11.600	8.110	1,43	11,2	11.700	8.000	1,46
DEX25	21.400	23.800	18.300	1,3	16,9	22.700	17.944	1,27
DEX50	43.500	48.600	35.600	1,36	23	50.800	36.654	1,39
DEX80	66.700	80.900	55.500	1,46	31,5	79.800	55.632	1,43
DEX150	123.600	147.600	100.300	1,47	39,4	143.000	98.559	1,45
DEX270	196.300	273.000	164.200	1,66	49,4	262.000	167.500	1,56
DEX410	276.500	409.800	236.300	1,73	55,4	403.000	239.903	1,68
DEX670	401.300	667.800	332.800	2,01	70,8	676.000	349.303	1,94

Zur Überprüfung von Fraktionierungseinheiten (Größenausschlusschromatographie oder Fluss Feld-Fluss-Fraktionierung) haben sich die Dextrane bewährt [135] , [136] , da sie keine Adsorptionstendenzen mit dem Trennmedium aufweisen. Ein direkter Vergleich der Daten mit den Referenzen [135] und [136] ist nicht möglich, da die Dextrane in den dort verwendeten Molmassenabstufungen vom Hersteller nicht mehr angeboten werden.

Es wurden alle Dextran-Proben mittels kombinierter Anlage vermessen. Als Beispiel wurde

[135] Heins, D., *Charakterisierung von Stärkederivaten mittels Größenausschlusschromatographie, Fluss-Feldfluss-Fraktionierung und Lichtstreuung*, Dissertation Universität Hamburg, **2000**

[136] Thielking, H., *Querflußfraktionierung/Lichtstreuung*, Dissertation Universität Hamburg, **1997**

das Dextran *DEX410* ausgewählt, um das Elutionsdiagramm in Abbildung 32, die Verteilungen der Molmasse in Abbildung 33 und die Verteilung der Teilchengröße in Abbildung 34 zu zeigen.

In dem Elutionsdiagramm des Dextrans *DEX410* ist neben dem Konzentrationssignal (—) auch das 90°-Lichtstreusignal (---) und der Molmassenverlauf (·) abgebildet. Die Signale vom Lichtstreuphotometer und vom Konzentrationsdetektor zeigen beide einen monomodalen Verlauf. Der Molmassenverlauf zeigt einen *SEC* typischen abfallenden Verlauf von den hohen Molmassen bei kleinen Elutionsvolumina hin zu den niedrigen Molmassen bei hohen Elutionsvolumina.

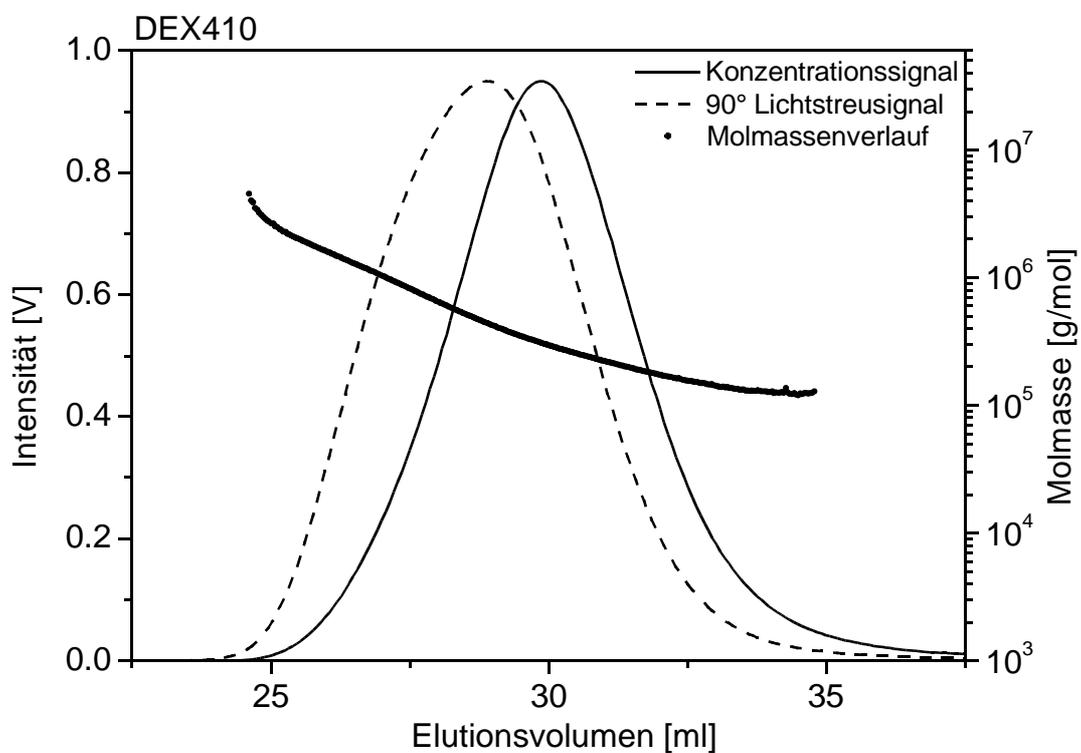


Abbildung 32: Elutionsdiagramm des Dextrans *DEX410* in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

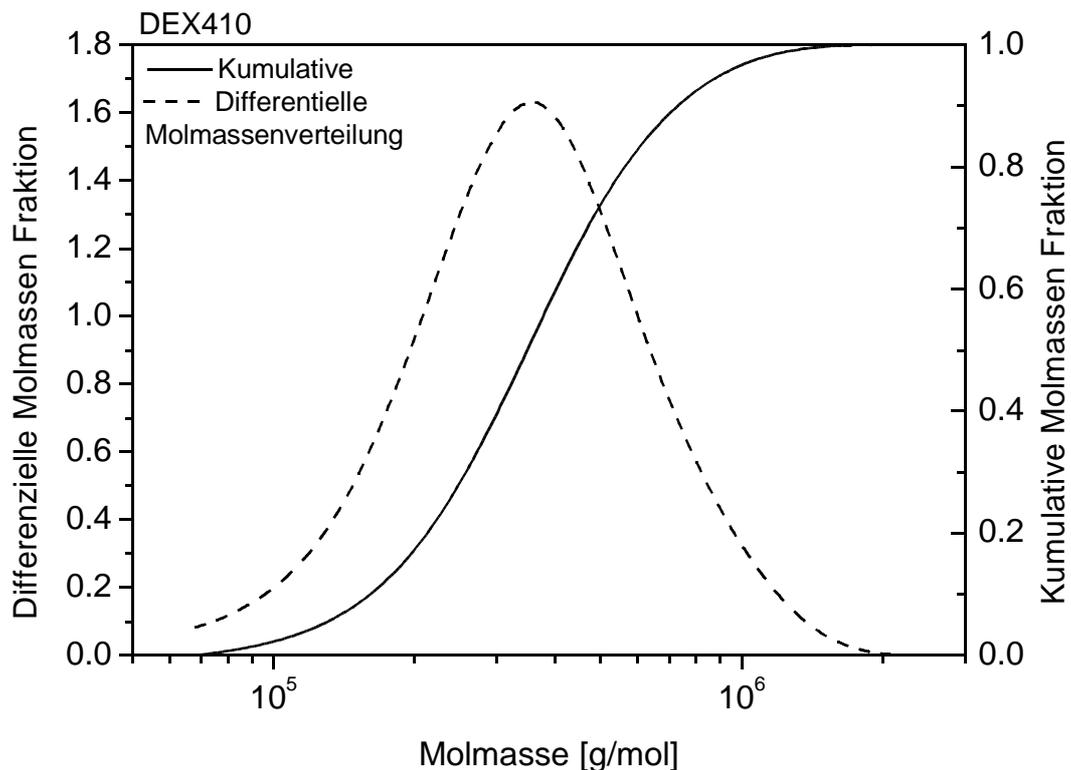


Abbildung 33: Differenzielle und kumulative Molmassenverteilung des Dextrans DEX410 in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

Die Molmassenbestimmung ergab 409.700 g/mol für die gewichtsmittlere Molmasse, was gut mit den Herstellerangaben von 409.800 g/mol aus der relativen GPC-Analyse und von 403.000 g/mol aus Batchmessungen via Kleinwinkellaserlichtstreuung LALLS übereinstimmt. Neben den Molmassenmittelwerten für die verschiedenen Dextrane wurde auch die Molmassen- und Teilchengrößenverteilung ermittelt. Dies ist anhand des Dextrans DEX410 einmal für die Molmasse in Abbildung 33 und die Teilchengröße in Abbildung 34 aufgetragen. Aus der Auftragung der Molmassenverteilung ist ersichtlich, dass sich der Molmassenbereich von 2.000.000 bis 70.000 g/mol erstreckt, wobei der Hauptteil zwischen 300.000 und 400.000 g/mol liegt.

Aufgrund der sehr kompakten verzweigten Struktur ist die Verteilung des Gyrationradius sehr eng und liegt zwischen 8 und 28 nm. Für den z-mittleren Gyrationradius  $R_{Gz}$  ergibt sich ein Wert von 17 nm. Zum Vergleich hat ein Pullulan bei gleicher Molmasse von ca. 400.000 g/mol einen z-mittleren Gyrationradius von 25 nm.

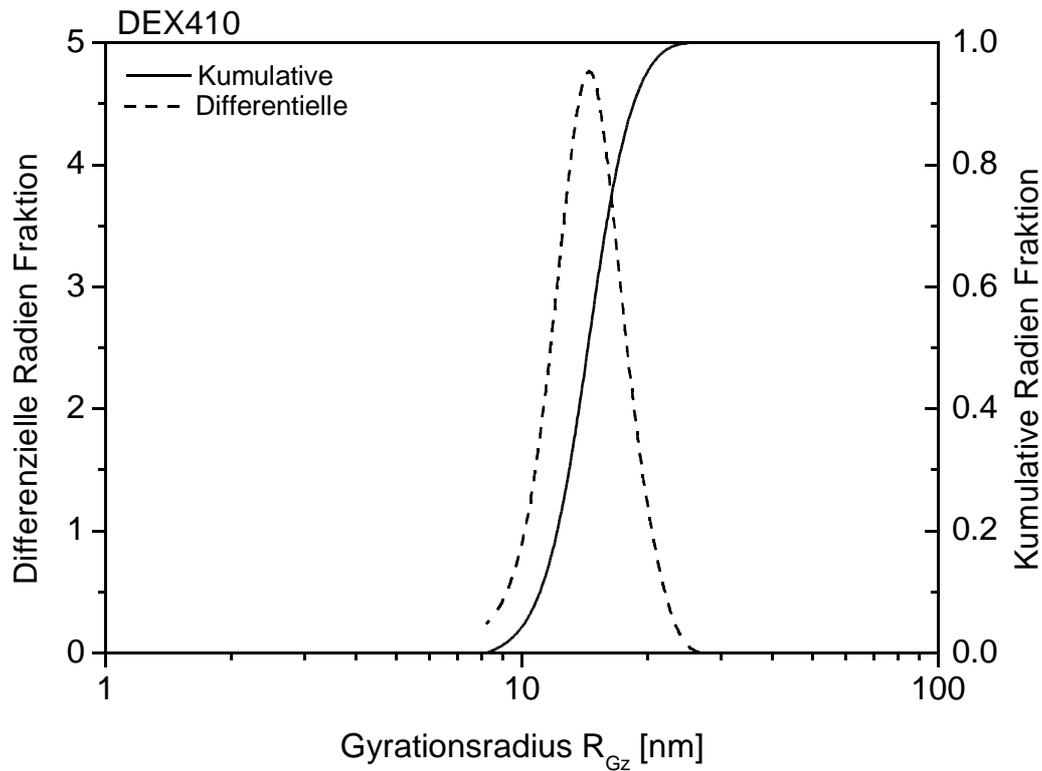


Abbildung 34: Die Gyrationradiusverteilung des Dextrans DEX410 in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C. Dargestellt sind die kumulative (—) und die differenzielle (----) Verteilung.

Zum Vergleich der Molmassenverteilungen der einzelnen Dextrane wurden diese sowohl in differenzieller als auch in kumulativer Form in den Abbildungen 35 und 36 zusammen aufgetragen. Hierbei ist auch die vom Hersteller vorgegebene Molmassenreihenfolge zu finden, d.h. DEX670 liegt und beginnt mit der Molmassenverteilung in einem höheren Bereich als DEX410, wobei bei allen Dextranen Überschneidungen im Molmassenbereich vorliegen. Die Lage der Maxima in der Abbildung 35 unterscheidet sich aber deutlich voneinander. Die prozentualen Anteile, der hoch- und niedermolekularen Ausläufer an dem Gesamt-Molmassenverlauf der einzelnen Proben, können aus der Abbildung 36 entnommen werden. Bei dem Dextran DEX670 liegt z.B. 15 % der Probenmoleküle über 1.000.000 g/mol und weniger als 0,2 % unter 100.000 g/mol.

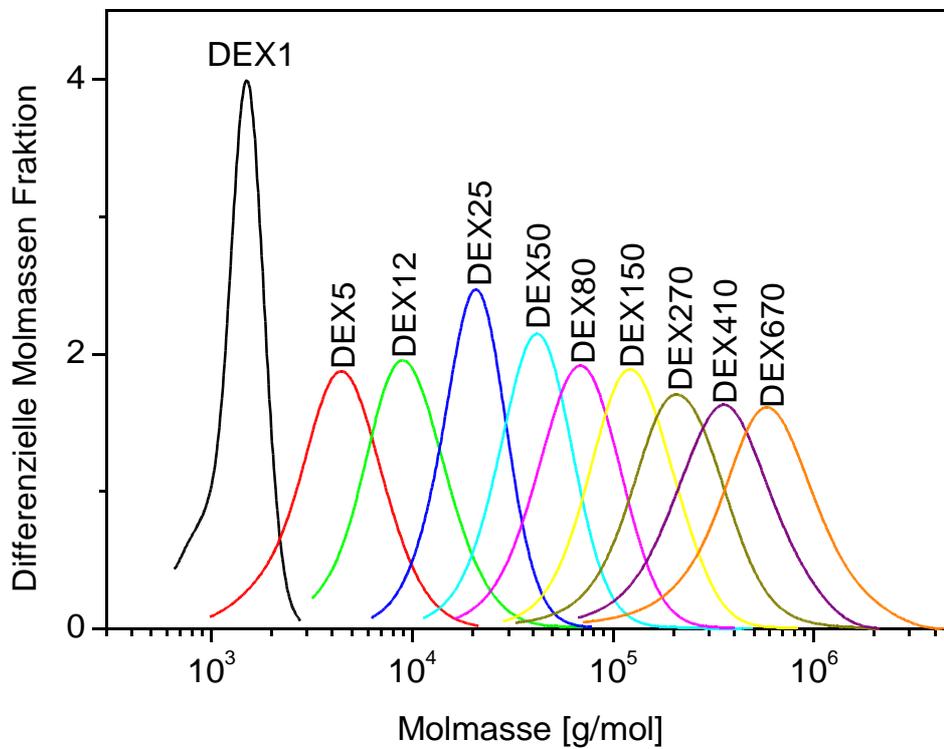


Abbildung 35: Differenzielle Molmassenverteilung der zehn Dextranstandards in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C..

In der Tabelle 11 sind alle Werte aus der Bestimmung mittels kombinierter Anlage aufgelistet. Wenn man die Werte der gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  mit den Herstellerangaben aus der relativen GPC vergleicht, erhält man eine gute Übereinstimmung. Generell liegen die Molmassenwerte aus der kombinierten Anlage etwas unterhalb von denen aus den relativen GPC-Messungen. Nur bei dem größten Dextran *DEX670* ist die ermittelte Molmasse größer. Im Vergleich zur Batchmessung via Kleinwinkellaserlichtstreuung ergab sich ein ähnliches Bild, allerdings waren hier die Werte für die beiden Dextrane *DEX410* und *DEX670* etwas höher.

Da es sich um verzweigte Polymere handelt, die sehr kompakt in Lösung vorliegen, konnten für die ersten sechs Dextrane (*DEX1* bis *DEX80*) die Gyrationradien  $R_{Gz}$  und deren Verteilungen nicht bestimmt werden. Auch die größeren Dextrane (*DEX150* bis *DEX670*) hatten nur sehr kleine Gyrationradien von 10 bis 22 nm, bei denen man sich an der Messgrenze des Vielwinkellaserlichtstreuophotometers befand.

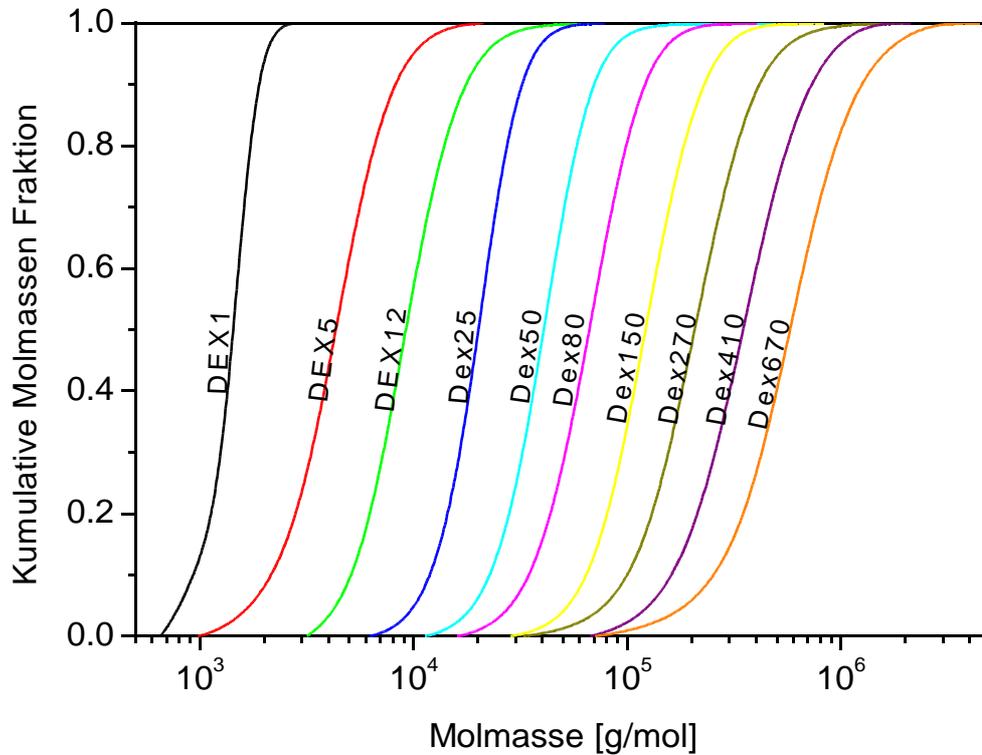


Abbildung 36: Kumulative Molmassenverteilung der zehn Dextran-Standards in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

Tabelle 11: Daten aus der SEC/MALLS/RI-Messung bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

<b>Probe</b>	$M_{w,SEC/MALLS/RI}$ [g/mol]	$M_{P,RI}$ [g/mol]	$M_{P,LS}$ [g/mol]	$(M_w/M_n)$ SEC/MALLS/RI	$R_{Gz}$ [nm]	<b>WF</b> [wt %]
DEX1	1.441	1.281	1.367	1,2	<i>n. b.*</i>	95
DEX5	4.923	4.163	5.530	1,4	<i>n. b.*</i>	95
DEX12	10.710	8.940	10.960	1,4	<i>n. b.*</i>	96
DEX25	21.480	20.330	22.760	1,3	<i>n. b.*</i>	94
DEX50	44.920	41.410	47.970	1,3	<i>n. b.*</i>	96
DEX80	74.330	67.490	83.000	1,4	<i>n. b.*</i>	95
DEX150	138.200	117.100	147.900	1,4	10	95
DEX270	243.500	187.900	247.600	1,5	15	94
DEX410	409.700	306.300	450.500	1,6	17	92
DEX670	694.100	455.300	636.900	1,8	22	91

\* *n. b.* = nicht bestimmbar, Messgrenze des Streulichtdetektors.

Aus den Daten der Dextrane DEX150 bis DEX670 konnte eine  $R_G$ - $M$ -Beziehung aufgestellt

werden. Da der Hersteller die Staudingerindizes für die Dextrane angegeben hatte, wurden diese Daten für die Erstellung einer  $[\eta]$ - $M$ -Beziehung verwendet. Die Parameter für die Struktur-Eigenschafts-Beziehungen sind in der Tabelle 12 zusammengefasst.

Tabelle 12: Struktur-Eigenschafts-Beziehungen für Dextrane

<b>RG-M Beziehung</b>		<b><math>[\eta]</math>-M-Beziehung</b>		<b>Weitere Angaben</b>		
$K_{RG}$	$\nu$	$K[\eta]$	$a$	Lösungsmittel	Methode	Quelle
$4,67 * 10^{-2}$	0,46	$1,69 * 10^{-1}$	0,46	0,1 M NaNO <sub>3</sub>	SEC	Diese Arbeit
$3,01 * 10^{-2}$	0,48	$1,12 * 10^{-1}$ *calc.	0,44 *calc.	0,1 M NaNO <sub>3</sub>	FFFF	Thielking [136]
$1,90 * 10^{-2}$	0,42	-	-	0,1 M NaNO <sub>3</sub>	FFFF	Adolphi [137]
$3,00 * 10^{-2}$	0,50	$1,0 * 10^{-1}$ *calc.	0,50 *calc.	0,1 M NaNO <sub>3</sub>	FFFF	Roessner [138]
$6,00 * 10^{-2}$	0,47	-	-	0,1 M NaNO <sub>3</sub>	SEC	Roessner [139]
-	-	$1,72 * 10^{-1}$	0,452	H <sub>2</sub> O		Pharmacosmos

\*calc. = berechnet via Fox-Flory

Bei einem Aufweitungsparameter  $\nu$  in einem guten Lösungsmittel kleiner oder gleich 0,5 liegt eine kompakte Struktur vor, das bedeutet, es liegen entweder Aggregate oder verzweigte Polymere vor. Bei den Dextranen handelt es sich um verzweigte Polysaccharide, was sehr gut an einem Aufweitungsparameter von 0,46 ersichtlich ist. Der Vergleich mit den Aufweitungsparametern anderer Struktur-Eigenschafts-Beziehungen in der Tabelle 12 zeigte Werte zwischen 0,42 und 0,50 und von einem weiteren Aufweitungsparameter in 0,1 M Natriumnitratlösung von 0,47 nach Smit 1992 in der Literaturstelle [136] zeigten eine gute Übereinstimmung.

[136] Thielking, H., *Querflußfraktionierung/Lichtstreuung*, Dissertation Universität Hamburg, **1997**

[137] Adolphi, U., *Untersuchung der Lösungsstruktur wasserlöslicher Polysaccharide mittels kombinierter Querflußfraktionierung und Lichtstreuung*, Dissertation Universität Hamburg, **1996**

[138] Roessner, D., *Entwicklung der neuartigen Methode Programmed Force Field Flow Field-Flow Fractionation/Multi-Angle Laser Light Scattering und Anwendung der Size Exclusion Chromatography/Multi-Angle Laser Light Scattering Methode zur Strukturanalyse hoch- und niedermolekularer wasserlöslicher Polysaccharide*, Dissertation Universität Hamburg, **1994**

[139] Roessner, D., *Untersuchung von unterschiedlichen Polysaccharidstrukturen mit Hilfe der Lichtstreuung*, Diplomarbeit Universität Hamburg, **1992**

### 4.1.3 Pullulan

Pullulane sind wasserlösliche, neutrale und unverzweigte Polysaccharide, die von dem Pilz *Aureobasidium pullulans* (früher *Pullularia pullulans*) gebildet werden. Es ist ein  $\alpha$ -D-Glucan, das sich aus  $\alpha$ -(1,6)-glykosidisch verknüpften D-Maltotrioseeinheiten aufbaut. Neben Maltotriose sind auch Maltotetraose und einige  $\alpha$ -(1,3)-Verknüpfungen nachweisbar [8]. Ein Ausschnitt aus einer Pullulankette ist in Abbildung 37 dargestellt. Sie zeigt zwei Maltotrioseeinheiten (eine ist grau hervorgehoben), die untereinander  $\alpha$ -(1,6)-glykosidisch verknüpft sind. Neben der Verwendung als Kalibriersubstanz für flüssigchromatographische Systeme finden Pullulane auch Anwendung bei der Herstellung von Folien, Beschichtungen und Klebstoffen.

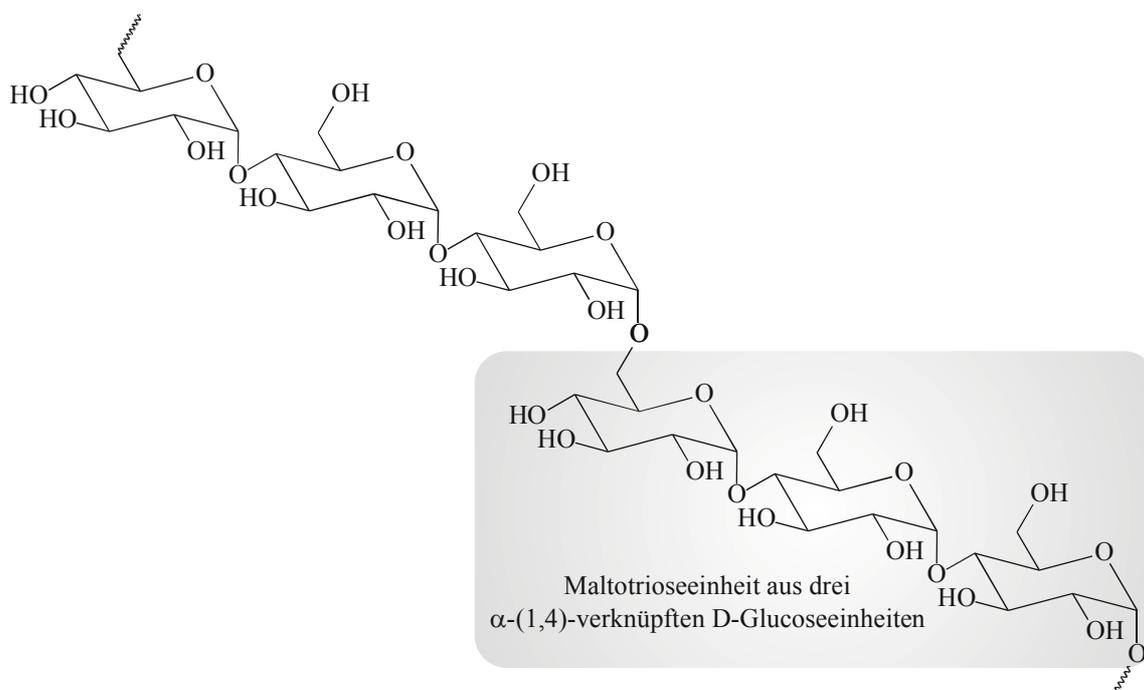


Abbildung 37: Ausschnitt aus der Struktur einer Pullulankette. Dargestellt sind zwei D-Maltotrioseeinheiten, die  $\alpha$ -(1,6)-verknüpft sind.

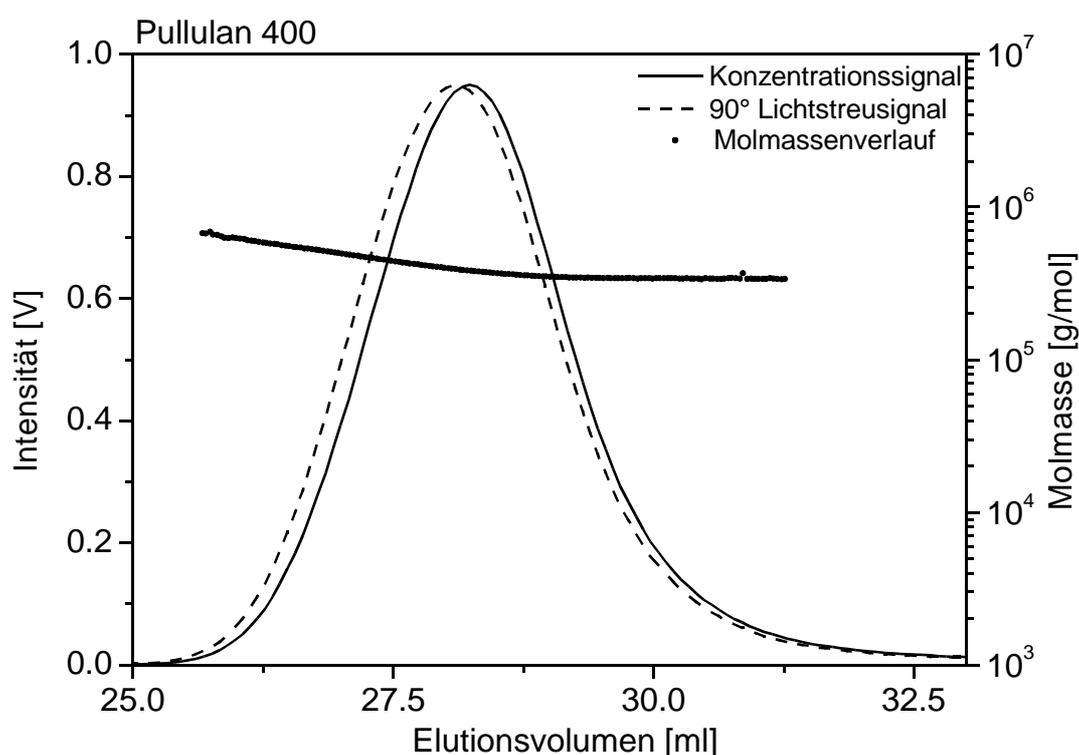
Es wurden 8 eng verteilte Pullulanstandards der Firma Polymer Standards Service GmbH (PSS GmbH, Mainz) untersucht. Die Herstellerangaben sind in der Tabelle 13 aufgeführt und wurden mittels relativer GPC bestimmt. Angaben über Lichtstreudaten waren leider nicht vorhanden.

[8] CD Römpp Chemie Lexikon, Thieme Verlag, Stuttgart, 1995

Tabelle 13: Herstellerangaben (PSS GmbH, Deutschland) aus relativen GPC-Daten.

<i>Probe</i>	$M_p$ [g/mol]	$M_n$ [g/mol]	$M_w$ [g/mol]	$M_w/M_n$
<i>P10</i>	11.200	10.700	11.800	1,10
<i>P20</i>	22.000	21.300	22.800	1,07
<i>P50</i>	45.900	44.600	47.300	1,06
<i>P100</i>	106.000	100.000	112.000	1,12
<i>P200</i>	200.000	188.500	212.000	1,13
<i>P400</i>	380.000	358.000	404.000	1,13
<i>P800</i>	710.000	641.000	788.000	1,23
<i>P1600</i>	1.520.000	1.390.000	1.660.000	1,19

Die Pullulane wurden als 0,5 %-ige Lösung eingewogen und ohne Rühren bzw. Schütteln 24 h im Kühlschrank bei 5 °C gelagert, damit Agglomerate aufschwellen können und mechanischer Abbau vermieden wird. Nach den 24 h wurden die Lösungen vorsichtig auf einen Schüttelapparat homogenisiert. Nach dem Homogenisieren wurden die Lösungen 45 Minuten bei 13.000 U/Min zentrifugiert und in Probenvials zum Vermessen überführt. In Abbildung 38 ist das Elutionsdiagramm des Pullulans *P400* mit dem Konzentrationssignal, dem 90°-Lichtstreusignal und dem Molmassenverlauf wiedergegeben.

Abbildung 38: Elutionsdiagramm der Probe *P400* in 0,1 M  $\text{NaNO}_3$ -Lösung bei 25°C.

Die Signale des Streulichtphotometers und des Konzentrationsdetektors zeigen beide einen monomodalen Verlauf. Die gewichtsmittlere Molmasse für das Pullulan *P400* betrug 406.000 g/mol. Aufgrund der Steigung des Molmassenverlaufs im Elutionsdiagramm kann man auf eine enge Molmassenverteilung schließen, was den Wert für die Verteilungsbreite  $M_w/M_n$  mit 1,10 widerspiegelt. Die Molmassenverteilungen der Pullulane sind differenziell in der Abbildung 39 und kumulativ in der Abbildung 40 dargestellt.

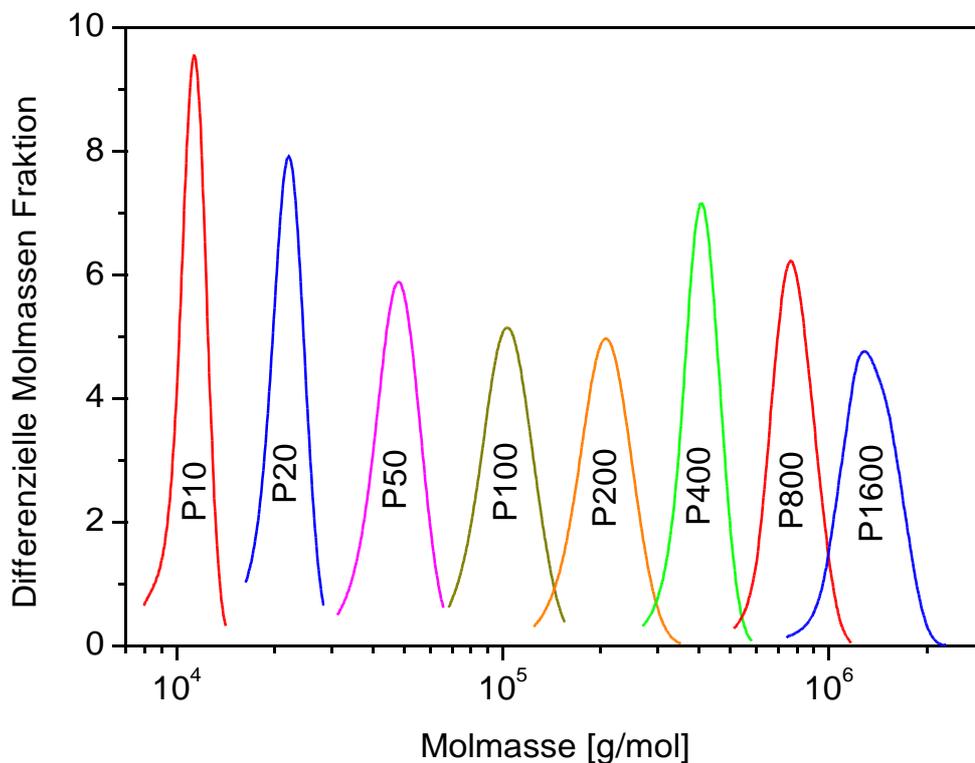


Abbildung 39: Differenzielle Molmassenverteilung der 8 Pullulane in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C..

Im Gegensatz zu den Dextranen (Molmassenverteilung in der Abbildung 35 und der Abbildung 36 auf den Seiten 73 und 74) überlappen die Molmassenbereiche der einzelnen Pullulane nur gering miteinander sowohl mit der vorherigen Probe als auch mit der nachfolgenden. Die Pullulane *P10* bis *P50* überlappen sogar gar nicht und *P100* nur mit *P200*. Ein weiterer Unterschied zu den Dextranstandards liegt in der Breite der Molmassenverteilung. Die Dextrane gehen dabei über eine Dekade, was bei den Pullulanen nicht der Fall ist. Hier sind die Molmassenverteilungen vom Bereich enger für jede Probe.

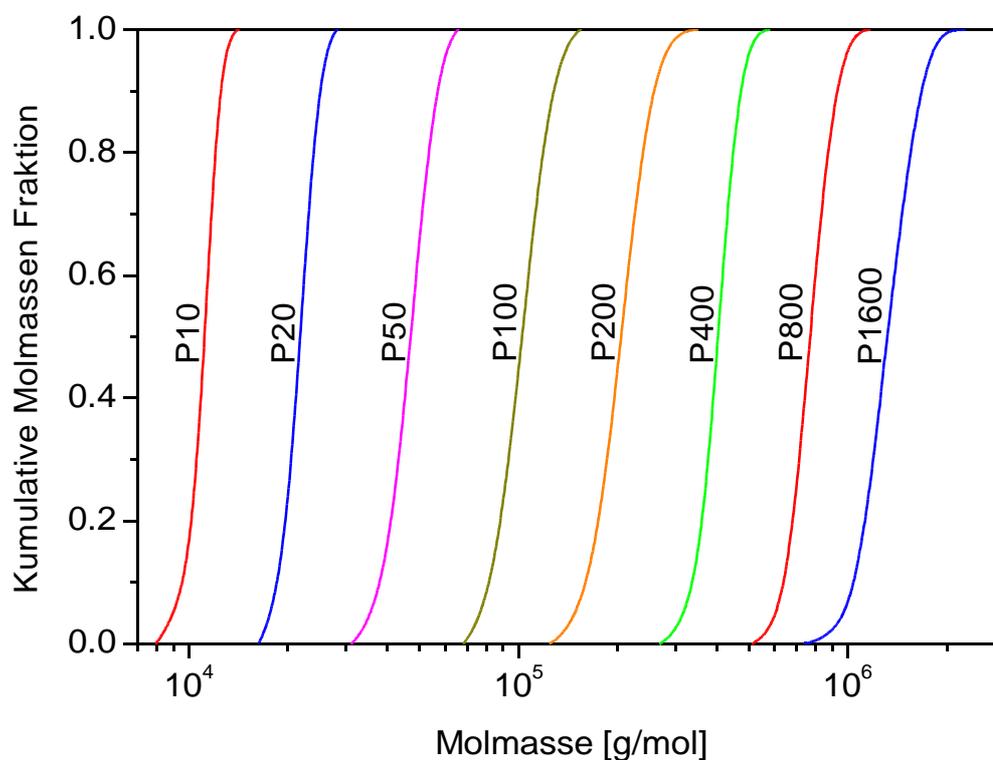


Abbildung 40: Kumulative Molmassenverteilung der 8 Pullulane.

Für die Pullulane *P200* bis *P1600* konnten die Aufweitungsparameter  $\nu$  für die Einzelmessung bestimmt werden. Die Werte lagen zwischen 0,59 und 0,61. Ein Aufweitungsparameter  $\nu$  von größer 0,5 entspricht der Struktur eines aufgeweiteten Knäuels in einem guten Lösungsmittel. Alle mittels kombinierter Anlage ermittelten Polymerdaten sind in der Tabelle 14 zusammengefasst.

Tabelle 14: Ergebnisse der SEC/MALLS/RI-Messungen der 8 Pullulane.

<i>Probe</i>	$M_w$ [g/mol]	$M_{p\ RI}$ [g/mol]	$M_w/M_n$	$R_{Gz}$ [nm]	$\nu$	WF [wt %]
<i>P10</i>	11.100	11.100	1,02	n.b.*	n.b.*	91
<i>P20</i>	22.000	21.800	1,02	n.b.*	n.b.*	93
<i>P50</i>	47.500	46.900	1,03	n.b.*	n.b.*	94
<i>P100</i>	104.000	100.400	1,10	n.b.*	n.b.*	94
<i>P200</i>	208.000	196.000	1,11	17	0,59	91
<i>P400</i>	406.000	384.000	1,10	25	0,60	90
<i>P800</i>	780.000	668.000	1,18	38	0,61	91
<i>P1600</i>	1.350.000	1.125.000	1,15	57	0,59	90

\* n. b. = nicht bestimmbar, Messgrenze des Streulichtdetektors.

Für dieses Hydrokolloid konnte aus den Daten der Pullulane *P200* bis *P800* eine  $R_G$ -M-

Beziehung aufgestellt werden. Die Bestimmung der Staudingerindizes konnte aufgrund der geringen Substanzmengen nicht durchgeführt werden, weshalb eine  $[\eta]$ - $M$ -Beziehung nicht direkt, sondern nur via *Fox-Flory* ermittelt werden konnte. Für die Berechnung wurde die Florykonstante von *Elias* für ungeladene Polymere mit  $4,18 \cdot 10^{24} \text{ mol}^{-1}$  verwendet. Die Parameter der Struktur-Eigenschafts-Beziehungen sind in der Tabelle 15 aufgeführt.

Tabelle 15: Struktur-Eigenschafts-Beziehungen für Pullulane

<b><i>R<sub>G</sub>-M Beziehung</i></b>		<b><i>[\eta]-M-Beziehung</i></b>		<b><i>Weitere Angaben</i></b>		
$K_{RG}$	$\nu$	$K[\eta]$	$a$	Lösungsmittel	Methode	Quelle
$6,19 \cdot 10^{-3}$	0,65	$4,65 \cdot 10^{-4}$	0,95	0,1 M NaNO <sub>3</sub>	SEC	Diese Arbeit
$1,17 \cdot 10^{-2}$	0,59	-	-	0,1 M NaNO <sub>3</sub>	FFFF	Adolphi [137]

Die hier ermittelte  $R_G$ - $M$ -Beziehungen deutet genauso wie die von Adolphi eine aufgeweitete Knäulstruktur, da beide Aufweitungparameter über 0,5 liegen.

[137] Adolphi, U., *Untersuchung der Lösungsstruktur wasserlöslicher Polysaccharide mittels kombinierter Querflußfraktionierung und Lichtstreuung*, Dissertation Universität Hamburg, **1996**

## 4.2 Charakterisierung von Polysaccharidproben

### 4.3 Hydroxyethylstärke HES

Hydroxyethylstärke ist ein Etherderivat der Stärke und wird als Blutplasmaersatzmittel in Deutschland angewendet (siehe Kapitel Blutplasmaersatzmittel). Neben der Anwendung als Blutplasmaersatzmittel wird die Hydroxyethylstärke auch noch in der Papier-, Textil-, Klebstoff- und Nahrungsmittelindustrie als Bindemittel, Schlichtemittel, Klebrohstoff und Verdickungsmittel eingesetzt. Die Herstellung für Blutplasmaersatzmittel erfolgt aus amylopektinreichen Stärken, die im ersten Schritt degradiert werden, um in den anwendungsspezifischen Molmassenbereich von 70.000 bis 450.000 g/mol zu gelangen. Die Degradation erfolgt entweder enzymatisch oder durch saure Hydrolyse. Die degradierte Stärke wird in alkalischer Lösung mit Ethylenoxid umgesetzt. Das Rohprodukt wird nach der Neutralisation aufgereinigt, durch eine Fällung werden die niedermolekulare Molekülfraction abgetrennt und das verbleibende Produkt getrocknet [140]. Das Abtrennen der niedermolekularen Molekülfraction kann auch durch eine Membranfiltration oder durch die Methode der kontinuierlichen Polymerfraktionierung (Continuos Polymer Fractionation *CPF*) [141] erfolgen. Die Substitution an den drei reaktiven Positionen der Anhydroglukoseeinheit *AGU* erfolgt im Verhältnis 80:10:10 ( $C_2:C_3:C_6$ ) [142]. Da es sich um einen Hydroxyalkylsubstituenten handelt, ist es möglich, dass mit steigendem Substitutionsgrad auch eine Veretherung an dem Hydroxyalkylsubstituenten erfolgen kann [143]. Der Ausschnitt aus einem Hydroxyethylstärkemolekül ist in der Abbildung 41 wiedergegeben. *HES* zeigt eine geringere Retrogradationsneigung. Unter dem Begriff Retrogradation versteht man verschiedene Prozesse (Konformationsänderung und Kristallisation), die zu einer graduellen und irreversiblen Unlöslichkeit kolloidaler Stärkelösungen führen. Durch die Einführung des Hydroxyethylsubstituenten unterscheidet sich die Hydroxyethylstärke von unmodifizierter Stärke durch eine erhöhte Stabilität gegenüber Enzymen (wichtig für die

[140] Laevosan G.m.b.H., *ExpaHES (HES200/0,5) 10%*, Linz, Produktinformation **2/1994**

[141] Gosch, C., Haase, T., Wolf, B. A., Kulicke, W.-M., *Molar Mass Distribution and Size of Hydroxyethyl Starch Fractions Obtained by Continuos Polymer Fractionation*, in: *Starch/Stärke*, **2002**, 54, 375

[142] Kulicke, W.-M., Roessner, D., Kull, W., *Characterization of Hydroxyethyl Starch by Polymer Analysis for use as a Plasma Volume Expander*, in: *Starch/Stärke*, **1993**, 45 (12), 445

[143] Sommermeyer, K., Cech, F., Schmidt, M., Weidler, B., *Klinisch verwendete Hydroxyethylstärke: Physikalisch-chemische Charakterisierung*, in: *Krankenhauspharmazie*, **1987**, 8 (8), 271

Anwendung als Blutplasmaersatzmittel), Säuren und Alkalien.

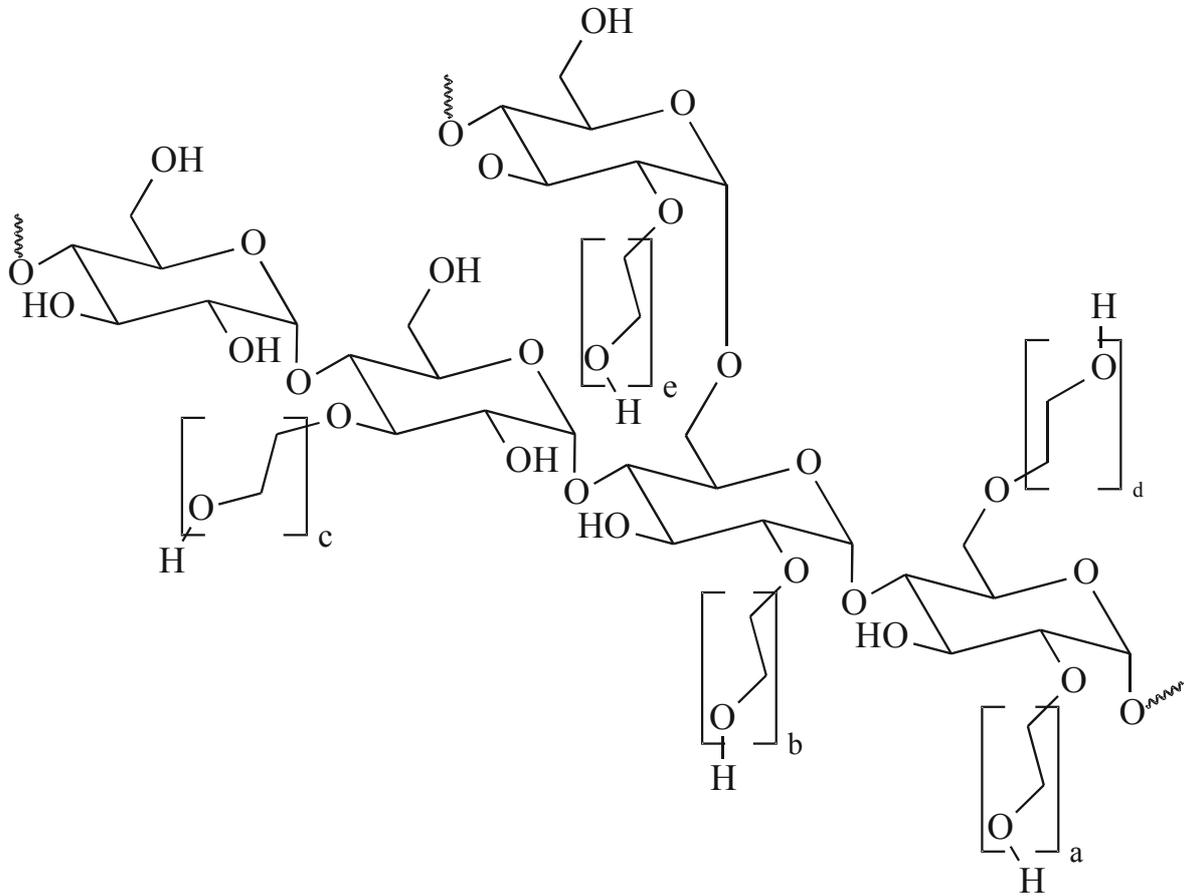


Abbildung 41: Ausschnitt aus einer Hydroxyethylstärkekette mit einer Verzweigung.

Es wurden fünf Hydroxyethylstärken von drei verschiedenen Herstellern untersucht. *HES1*, *HES4* und *HES5* waren von Fresenius Kabi Deutschland (Bad Homburg, Deutschland), *HES2* von Laevosan (Linz, Österreich) und *HES3* von B.Braun (Melsungen, Deutschland). Die Hydroxyethylstärken *HES1* und *HES2* lagen als Feststoff und die Hydroxyethylstärken *HES3* bis *HES5* als fertige Blutplasmaersatzlösungen vor. Die Herstellerangaben zu den fünf Hydroxyethylstärken sind in der Tabelle 16 zusammengefasst. Die drei Blutplasmaexpanderlösungen lagen in Form von 6 %igen Transfusionslösungen in 500 ml Gebinden vor. Bei den Proben *HES3* und *HES4* handelte es sich um Lösungen in isotonischer Kochsalzlösung und bei *HES5* um eine Lösung in 5 %ige Glucoselösung.

Tabelle 16: Herstellerangaben zu den Hydroxyethylstärken.

<i>Hydroxyethylstärke</i>	<i>Molmasse</i> <i>[g/mol]</i>	<i>MS</i>
<i>HES1</i>	200.000	0,5
<i>HES2</i>	450.000	0,7
<i>HES3</i>	70.000	0,58
<i>HES4</i>	130.000	0,4
<i>HES5</i>	200.000	0,5

Die fünf Proben wurden mit der kombinierten Anlage *SEC/MALLS/RI* bezüglich der Molmasse und der Molmassenverteilung untersucht. Die Proben *HES3* bis *HES5*, die als 6 %-ige Transfusionslösungen vorlagen, wurden direkt in die Probevials abgefüllt und vermessen. Von den beiden Hydroxyethylstärken *HES1* und *HES2* wurden Lösungen in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid angesetzt und vermessen. Zusätzlich wurde von den Proben *HES1* und *HES2* der Feuchtigkeitsgehalt bestimmt, der bei der Probe *HES1* 4,5 % und bei der Probe *HES2* 3,7 % betrug. Des Weiteren wurde die beiden Proben viskosimetrisch untersucht und die Staudingerindizes zu 16,8 cm<sup>3</sup>/g für *HES1* und 28,3 cm<sup>3</sup>/g für *HES2* ermittelt.

Die Elutionsdiagramme der Hydroxyethylstärken sind in den folgenden Abbildungen 42 bis 46 dargestellt. Als Erstes sind die beiden Hydroxyethylstärken, die als Feststoff vorlagen, aufgeführt. Die Probe *HES1* zeigt in der Abbildung 42 sowohl für das Lichtstreuungssignal als auch für das Konzentrationssignal einen monomodalen Verlauf. Bei der Hydroxyethylstärke *HES2* gilt der monomodale Verlauf nur für das Lichtstreuungssignal. Im Konzentrationssignal ist nach dem Maximum eine Schulter vorhanden. Die gewichtsmittleren Molmassen der beiden Proben waren 193.000 g/mol (*HES1*) und 523.000 g/mol (*HES2*). Die Probe *HES1* entspricht mit diesem Wert den Herstellerangaben sehr genau. Während die Probe *HES2* laut Hersteller 450.000 g/mol haben soll, wurde hier eine größere Molmasse bestimmt.

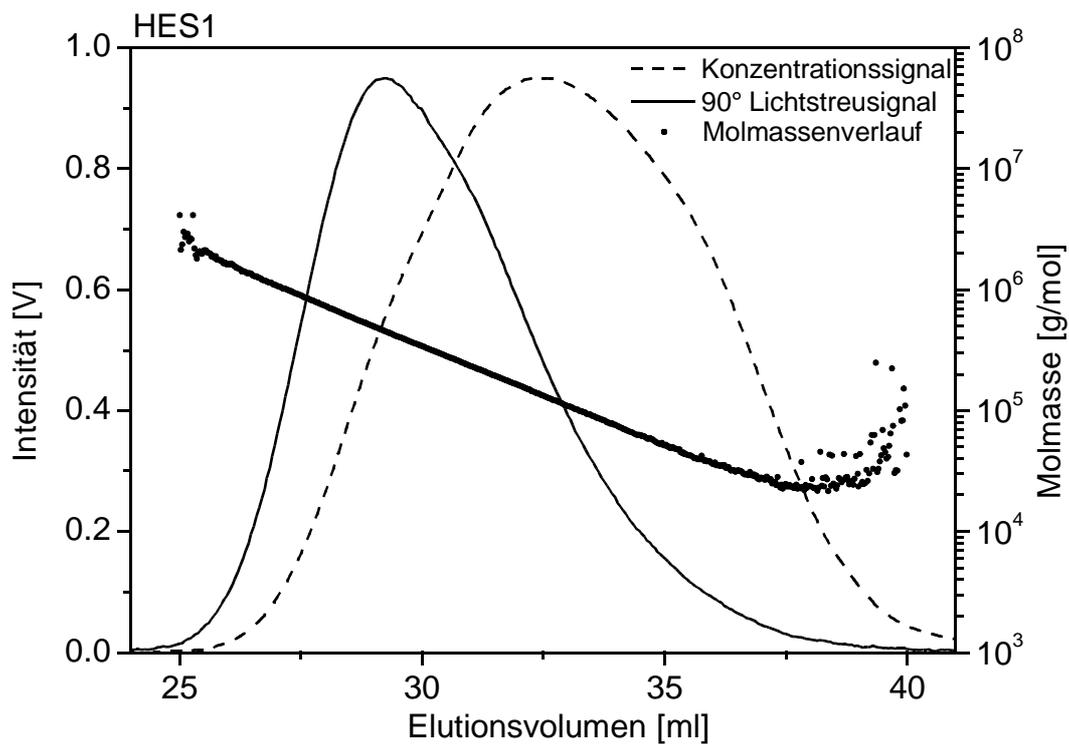


Abbildung 42: Elutionsdiagramm der Hydroxyethylstärke HES1 bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

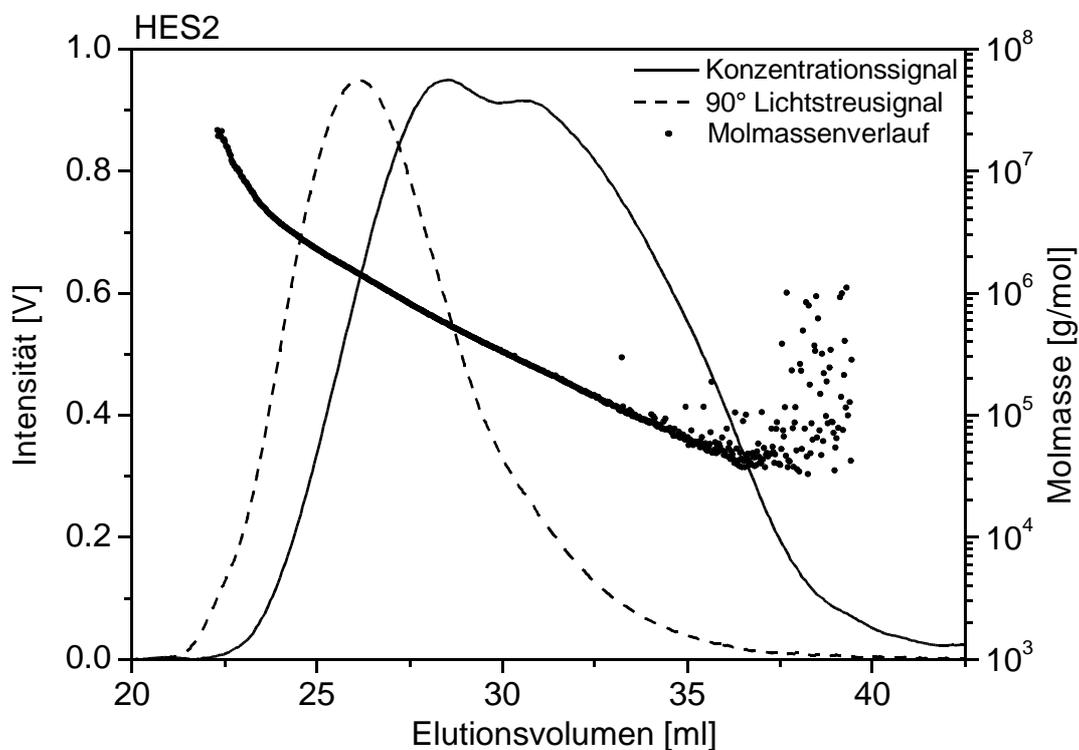


Abbildung 43: Elutionsdiagramm der Probe HES2 bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid..

---

Die drei HES-Proben, die direkt als Blutplasamaersatzmittellösung vermessen wurden, sind in den Abbildungen 44 bis 46 aufgetragen. Alle Proben zeigen, wie auch die beiden vorherigen, einen monomodalen Verlauf für das Lichtstreu- und das Konzentrationssignal. Aufgrund der Tatsache, dass die beiden Proben *HES3* und *HES4* in einer isotonischen Kochsalzlösung gelöst sind, zeigen diese beiden Proben einen intensiven Salzpeak, der nicht basislinien getrennt ist. Die Molmassen wurden mit 64.000 g/mol (*HES3*) und 103.000 g/mol (*HES4*) geringer bestimmt als die Herstellerangaben.

Bei der Hydroxyethylstärke *HES5* in Abbildung 46 handelt es sich bei dem Lösungsmittel um eine 5 %ige Glucoselösung. Der Peak für die Glucose ist im Konzentrationssignal sehr stark ausgeprägt und nicht basislinien getrennt zum *HES*-Peak. Der Verlauf der Molmassen zeigt bei allen Proben einen linearen Verlauf. Die *HES5* lag mit einer gewichtsmittleren Molmasse von 178.000 g/mol auch etwas unter den Herstellerangaben. Die Lagerstabilität von Hydroxyethylstärke-Lösungen in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid als Bakterizid wurde bereits nachgewiesen [144].

---

[144] Gosch, C. I., *Polymeranalytische Charakterisierung mittels Größenausschlusschromatographie, Fluß Feld-Flußfraktionierung und Lichtstreuung von Polysaccharid-Derivaten*, Dissertation Universität Hamburg, **2002**

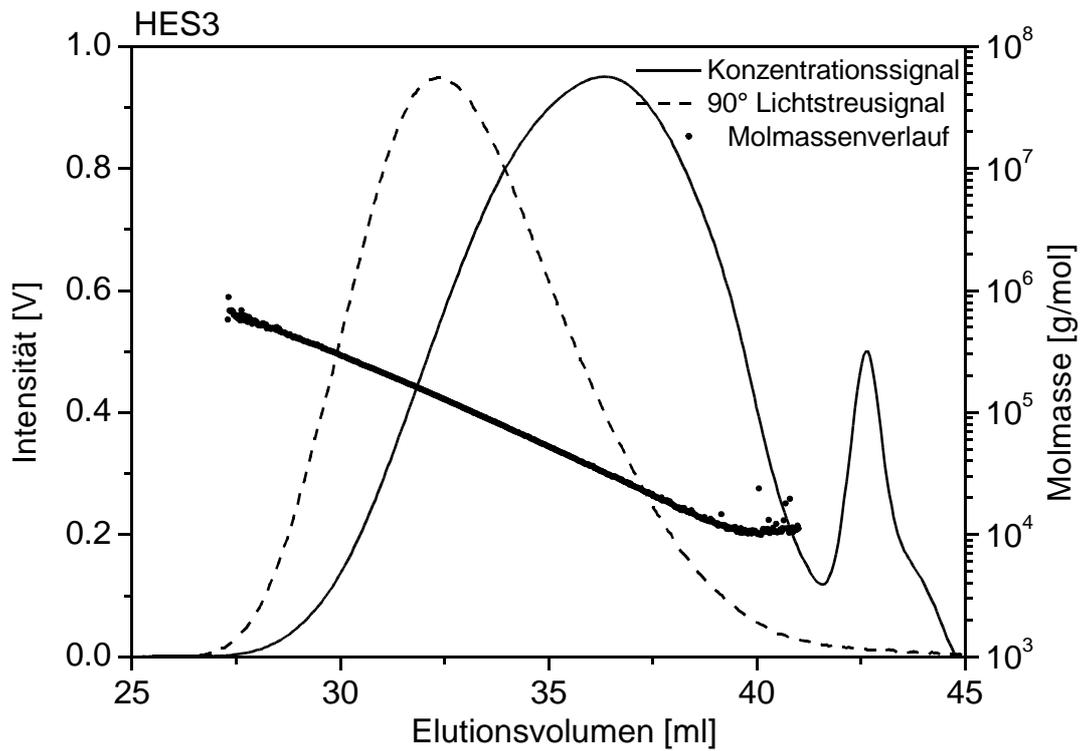


Abbildung 44: Elutionsdiagramm der HES3 gelöst in isotonischer NaCl-Lösung und charakterisiert bei 25°C in 0,1 M NaNO<sub>3</sub>-Lösung mit 200 ppm NaN<sub>3</sub>.

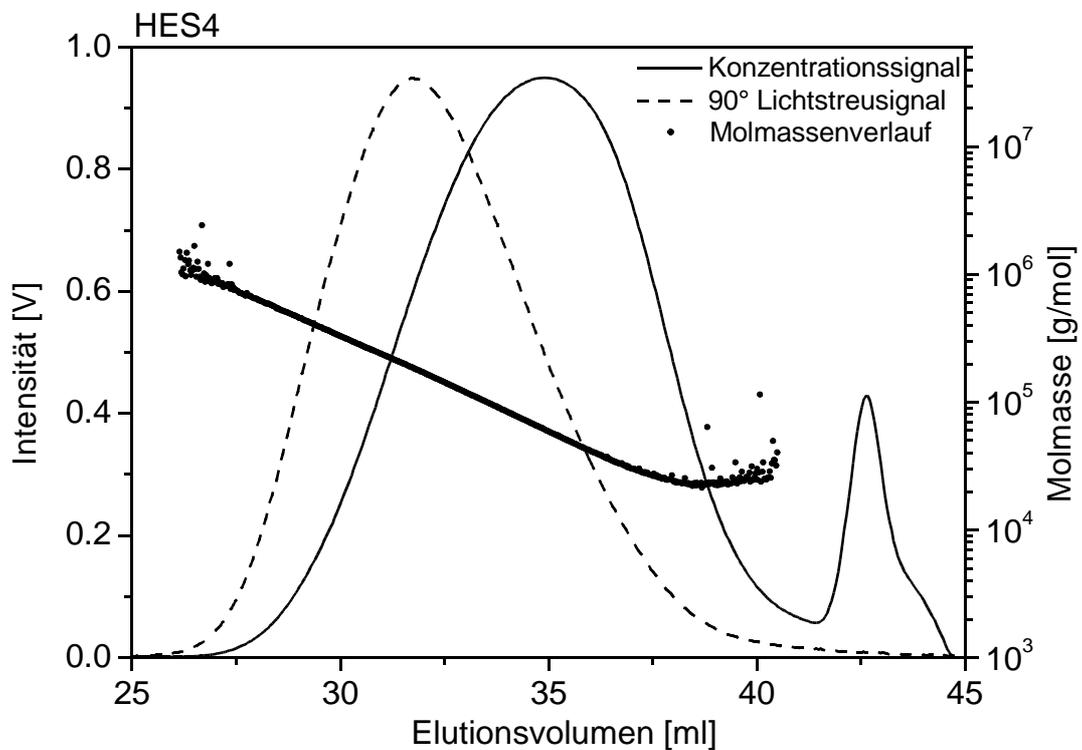


Abbildung 45: Elutionsdiagramm der Hydroxyethylstärke HES4 gelöst in isotonischer NaCl-Lösung und charakterisiert bei 25°C in 0,1 M NaNO<sub>3</sub>-Lösung mit 200 ppm NaN<sub>3</sub>.

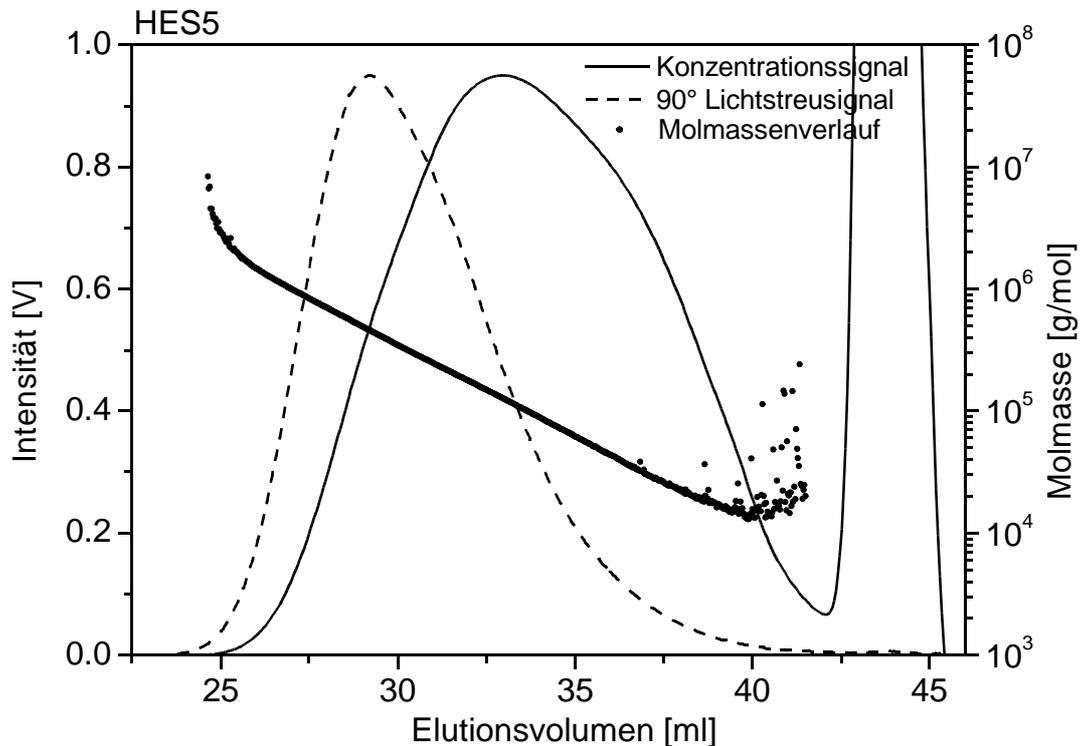


Abbildung 46: Elutionsdiagramm der Probe HES5 gelöst in 5%iger Glucoselösung, gemessen bei 25° in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

Zum Vergleich der fünf Hydroxyethylstärken wurde der Molmassenverlauf sowohl differenziell (Abbildung 47) als auch kumulativ (Abbildung 48) aufgetragen. Aus den beiden Abbildungen ist gut zu erkennen, dass die Proben im hochmolekularen Bereich starke Unterschiede aufweisen. Die Probe HES2 zeigt hochmolekulare Anteile bis in den Bereich von ca. 5 Millionen und war mit einer gewichtsmittleren Molmasse auch die größte im Probenfeld. Bei den Proben HES1 und HES5 handelt es sich laut Hersteller um Proben mit gleicher Molmasse von 200.000 g/mol. Während sie im hochmolekularen Bereich noch einen identischen Verlauf zeigen und bis ca. 2 Millionen gehen, unterscheiden sie sich im niedermolekularen Bereich. Dies ist besonders gut in der kumulativen Auftragung zu sehen. Die Lage der Maxima ist sehr ähnlich, die Probe HES1 liegt mit seinem Maximum bei einer geringfügig höheren Molmasse, als HES5. Die gewichtsmittleren Molmassen der beiden Hydroxyethylstärken unterscheiden sich deshalb auch mit 193.000 g/mol zu 178.000 g/mol nur wenig. Die beiden Proben HES3 und HES4 haben beide einen Molmassenverlauf bis ca. 1 Million, unterscheiden sich dann aber stark in der Lage der Maxima und im Verlauf des niedermolekularen Bereichs.

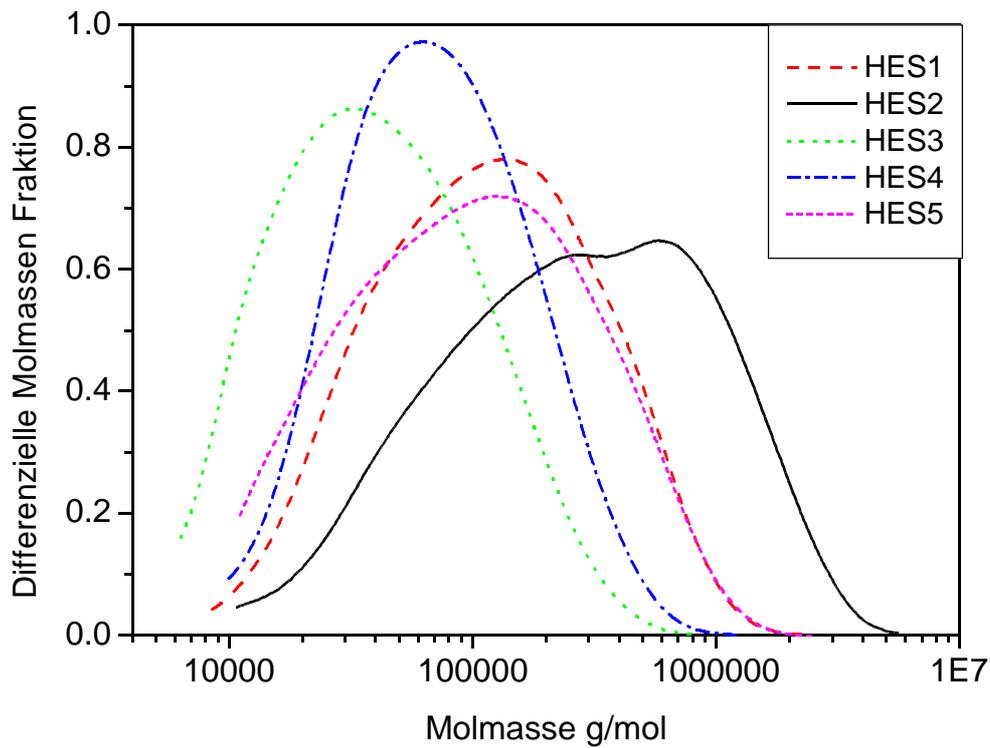


Abbildung 47: Differenzielle Molmassenverteilung der fünf Hydroxyethylstärken, gemessen bei 25°C in 0,1 M NaNO<sub>3</sub>-Lösung mit 200 ppm NaN<sub>3</sub>.

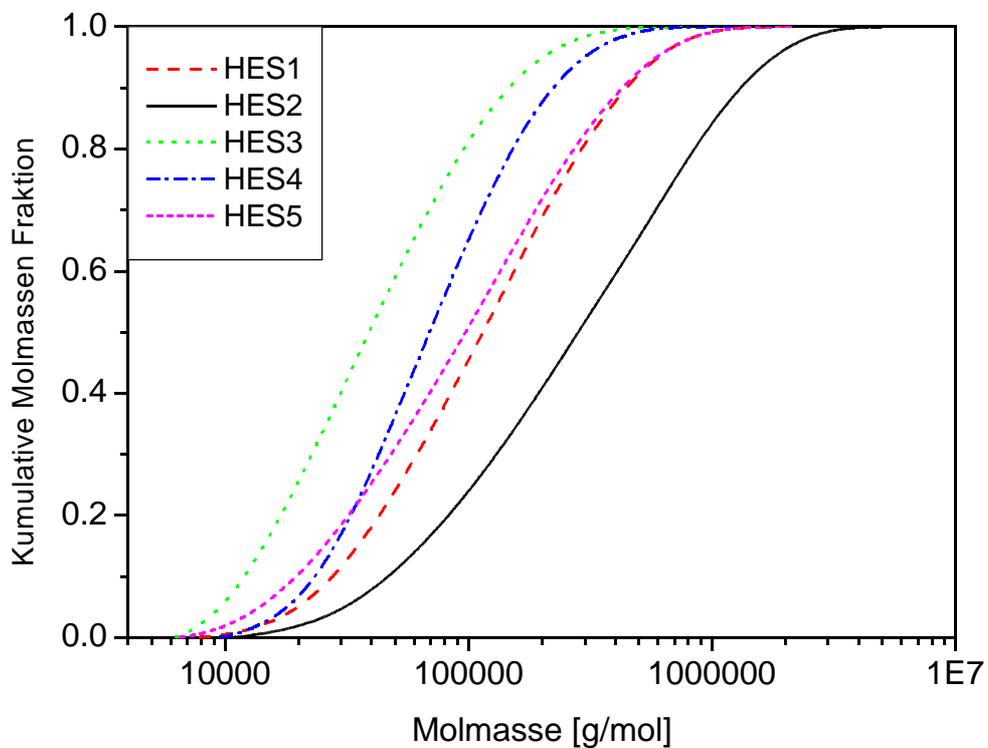


Abbildung 48: Kumulative Molmassenverteilung der fünf Hydroxyethylstärken, gemessen bei 25°C in 0,1 M NaNO<sub>3</sub>-Lösung mit 200 ppm NaN<sub>3</sub>.

Der Unterschied bei den Hydroxyethylstärken liegt hauptsächlich in den unterschiedlichen hochmolekularen Bereichen, da sie im niedermolekularen Bereich alle ähnlich enden, was sich entsprechend in der Tabelle 17 bei den gewichtsmittleren Molmassen zeigt. Die *HES2* verläuft dabei über den größten Molmassenbereich und zeigt auch die größte Verteilungsbreite mit  $M_w/M_n = 4,4$ .

*Tabelle 17: Messergebnisse von der kombinierten Anlage SEC/MALLS/RI für die fünf Hydroxyethylstärken.*

<i>Hydroxyethylstärke</i>	$M_w$ [g/mol]	$M_w/M_n$	WF [wt %]
<i>HES1</i>	193.000	2,6	94
<i>HES2</i>	523.000	4,4	87
<i>HES3</i>	64.000	2,3	99
<i>HES4</i>	103.000	2,1	99
<i>HES5</i>	178.000	3,1	98

Die Charakterisierung von Hydroxyethylstärke mit der kompakten verzweigten Struktur über die Größenausschlusschromatographie funktioniert sehr gut.

#### 4.4 Acetylstärken AS

Die Acetylstärke AS wird heutzutage als Alternative zu dem Blutplasmaersatzmittel Hydroxyethylstärke HES diskutiert. Die Diskussion beruht darauf, dass die Hydroxyethylstärke HES bezüglich der Nebenwirkungen das beste Präparat am Markt, aber trotzdem kein optimales Blutplasmaersatzmittel ist. Es kann zu Gewebeeinlagerungen und zu anaphylaktischen Reaktionen bis hin zu lebensbedrohlichen Schockzuständen kommen. Wie schon im Kapitel „Acetylstärke als alternatives Blutplasmaersatzmittel“ aufgezeigt wurde, handelt es sich bei der Acetylstärke um ein Esterderivat, welches im Organismus vollständig metabolisiert werden kann. Die Nebenwirkungen, die von der Hydroxyethylstärke aufgrund der anderen Bindungsart des Substituenten (Etherbindung) ausgehen, sollen mit der Acetylsubstitution beseitigt bzw. auf ein Minimum reduziert werden.

Somit stellt die Acetylstärke ein interessantes Produkt für die medizinische Anwendung dar. Einen erheblichen Einfluss auf die Pharmakokinetik haben dabei die Molmassenverteilung und der regiospezifische Substitutionsgrad  $x_2$  (an der 2-O-Position). Aufgrund der höheren Verweilzeit durch eine spezifische Substitution in 2-Position (siehe Abbildung 11) sollte zusammen mit den Projektpartnern Herrn Prof. Dr. Heinze und Herrn Dr. Liebert von der Universität Jena ein Syntheseverfahren für besonders selektiv substituierte 2-O-Acetylstärken entwickelt werden. Die Synthese von 2-O-Acetylstärke war aber nur über ein patentrechtlich geschütztes Verfahren durch Umsetzung mit Vinylacetat möglich [145], deshalb wurde nach einem alternativen selektiven Acetylierungsverfahren gesucht. Es wurde mit zwei verschiedenen amylopektinreichen (Amylopektingehalt > 99 %) Ausgangsstärken gearbeitet. Bei den verwendeten Stärken handelte es sich um Wachsmaisstärke Cerestar Ch. 1194999 der Firma Fresenius und um Amioca Powder TF der Firma National Starch & Chemical. Diese wurden mittels enzymatischer Degradation durch eine  $\alpha$ -Amylase aus Schweinepankreas (Hog Pancreas der Firma FLUKA) in der Molmasse reduziert, um in den einsatzrelevanten Molmassenbereich (70.000 – 450.000 g/mol [146]) des Blutplasmaexpander HES zu gelangen. Anschließend wurden diese degradierten Stärken zu Acetylstärken umgesetzt. Dabei wurden mehrere Syntheseverfahren zur Darstellung von 2-O-acetylierter Stärke durchgeführt. Die unterschiedlichen Syntheseverfahren sind in der Tabelle 18 aufgeführt.

---

[145] Deutsches Patent DE 19951734A1, **1999**

[146] Suttner, S., Boldt, J., *Stärke und Niere*, in: HAES-info, **2002**, 16, 1-8

Tabelle 18: Auflistung der Syntheseverfahren und der Probenanzahl.

Nummer	Syntheseverfahren	Probenanzahl
1	Isopropenylacetat/Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	5
2	Isopropenylacetat/Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1
3	Essigsäureanhydrid/Pyridin	2
4	Essigsäureanhydrid/Pyrrolidin	1
5	Essigsäure/N,N'-Carbonyl-diimidazol	12
6	Essigsäureanhydrid/Imidazol	17

Die Syntheseverfahren mit den Nummern 1 bis 4 zeigten keine gute 2-O-Selektivität und zusätzlich lieferten die Syntheseverfahren 3 und 4 auch nur sehr geringe Substitutionsgrade ( $DS \max. 0,2$ ). Das Syntheseverfahren mit der Nummer 5 zeigte eine sehr gute 2-O-Selektivität, war aber zu kostenintensiv. Erst das Verfahren 6 kombinierte eine sehr gute 2-O-Selektivität mit wirtschaftlichen Produktionsaspekten. Diese Laborproben sollten wegen der Wichtigkeit der Molmasse und deren Verteilung bezüglich der relevanten Parameter charakterisiert werden. Ein weiterer wichtiger Parameter für die medizinische Anwendung ist die Lagerstabilität in Lösung, die mit mehreren Methoden untersucht werden sollte. In Abbildung 49 ist ein Ausschnitt aus einer Amylopektinkette mit Acetylsubstituenten in der 2-O-Position dargestellt.

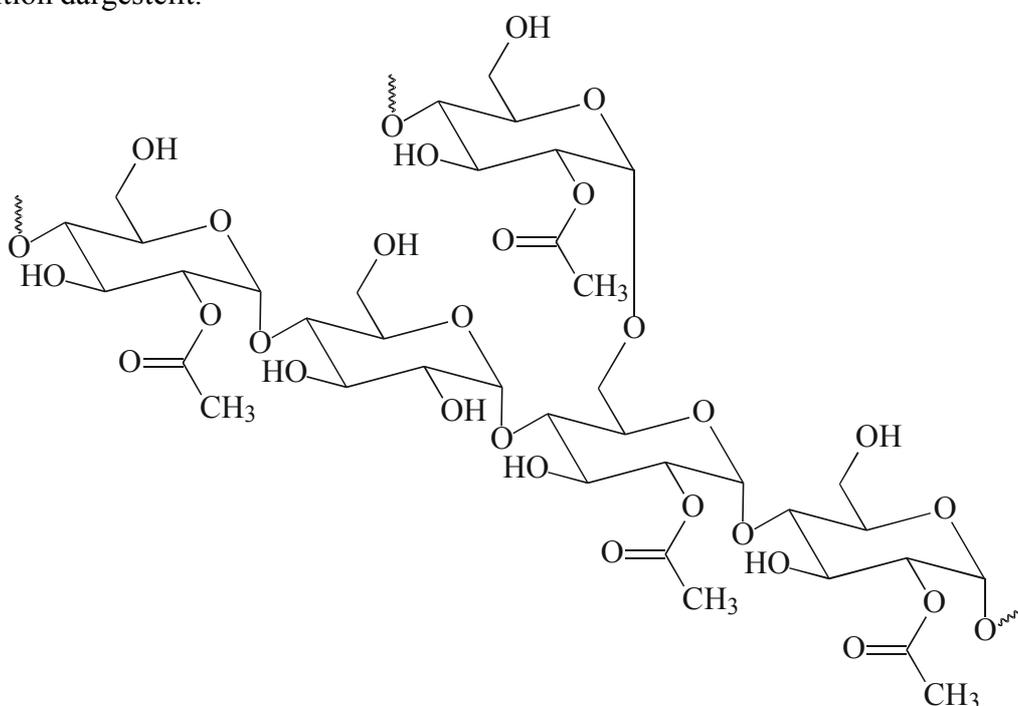


Abbildung 49: Strukturformel einer 2-O-Acetylstärke mit einem durchschnittlichen Substitutionsgrad von  $DS = 0,8$  für diesen Ausschnitt.

Als Erstes erfolgte die Trockengehaltsbestimmung der Acetylstärken mittels Gefriertrocknung bis zur Massenkonstanz. Dabei wurde ein Feuchtigkeitsgehalt von 2,7 bis 7,9 % gefunden. Die Messwerte für den Trockengehalt und Feuchtigkeitsgehalt sind in der Tabelle 19 aufgelistet. Der Trockengehalt der Proben ist für die weitere Charakterisierung der Acetylstärken mittels der Viskosimetrie bzw. der kombinierten Anlage *SEC/MALLS/RI* sehr wichtig, da er einen Einfluss auf die Einwaage und damit auf die Konzentration hat.

*Tabelle 19: Trocken- und Feuchtigkeitsgehalt der Acetylstärken.*

<b>Acetylstärke</b>	<b>Trockengehalt</b> [wt %]	<b>Feuchtigkeitsgehalt</b> [wt %]
AS288	92,1	7,9
AS289	93,0	7,0
AS290	93,1	6,9
AS291	94,1	5,9
AS292	93,9	6,1
AS294	96,0	4,0
AS295	97,3	2,7
AS296	94,1	5,9
AS297	95,1	4,9
AS298a	93,8	6,2
AS298b	93,6	6,4
AS299	94,9	5,1
AS300	94,1	5,9

Anschließend wurden die Acetylstärken viskosimetrisch mittels eines Ubbelohde Kapillarviskosimeters Ic in einer 0,1 M  $NaNO_3$ -Lösung bei 25°C untersucht und der Staudingerindex ermittelt. Die Auftragung der viskosimetrischen Daten nach Huggins, zur Ermittlung des Staudingerindex  $[\eta]$ , ist in Abbildung 50 für die vermessenen Acetylstärken aufgetragen. Es ist zu sehen, dass bis auf die Probe AS299 alle anderen Acetylstärken dicht beieinander liegen.

In der Tabelle 20 sind die Staudingerindizes der einzelnen Acetylstärken aufgeführt. Die Acetylstärken AS291 und AS300 wurden nicht bestimmt, da nicht genug Substanzmenge zur Verfügung stand. Für das Blutplasmaersatzmittel HESI ergab der Staudingerindex 16,8 cm<sup>3</sup>/g und für HES2 28,3 cm<sup>3</sup>/g. Die Werte für die Staudingerindizes  $[\eta]$  der Acetylstärken lagen zwischen 13,3 und 25,7 cm<sup>3</sup>/g und liegen somit im Bereich der Hydroxyethylstärken. Die Werte und somit die Raumerfüllung der Polymere in Lösung sind zwischen den beiden

Gruppen der Acetylstärken und Hydroxyethylstärken vergleichbar. Die Werte für die Staudingerindizes sind sehr klein und weisen auf eine geringe Raumerfüllung bzw. kompakte Struktur der Moleküle in Lösung hin. Dies stimmt sehr gut mit der verzweigten Struktur der Acetylstärken überein.

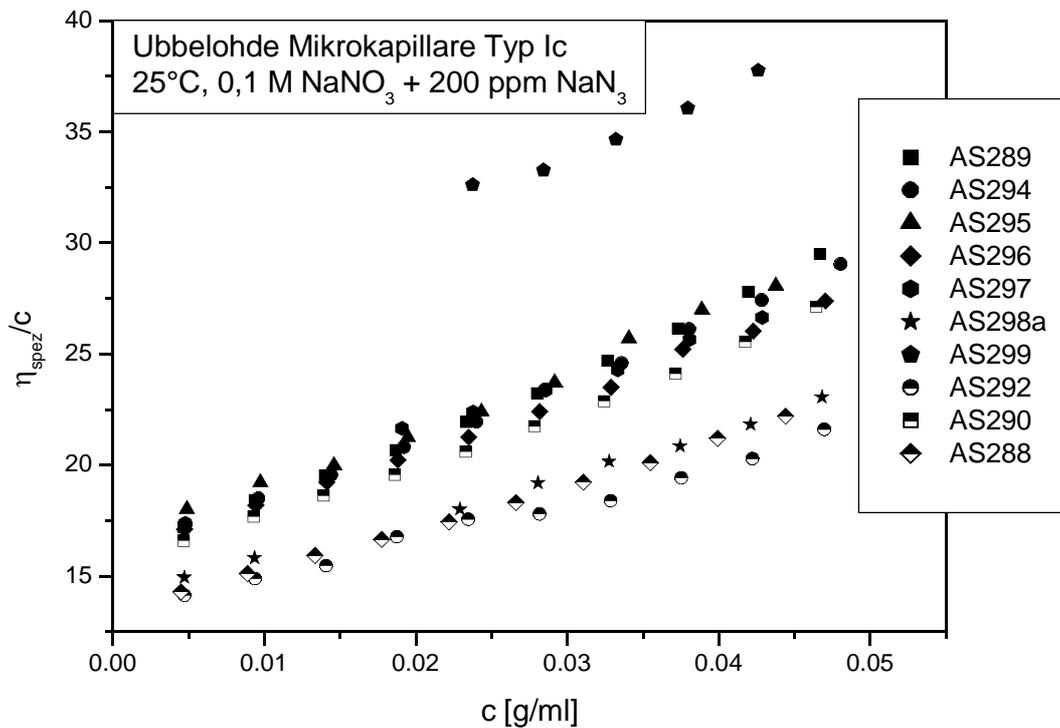


Abbildung 50: Huggins-Plot der Acetylstärken zur Bestimmung der Staudingerindizes  $[\eta]$ .

Tabelle 20: Zusammenfassung der viskosimetrischen Daten der Acetylstärken.

Acetylstärke	Staudingerindex $[\eta]$ [cm <sup>3</sup> /g]	$c^*_{[\eta]}$ [g/cm <sup>3</sup> ]
AS288	13,3	0,188
AS289	15,5	0,161
AS290	15,2	0,164
AS292	13,3	0,188
AS294	15,7	0,159
AS295	16,3	0,153
AS296	15,8	0,158
AS297	18,1	0,138
AS298a	13,5	0,185
AS299	25,7	0,097

Aus der doppellogarithmischen Auftragung der gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  gegen den Staudingerindex  $[\eta]$  wurde eine  $[\eta]$ - $M$ -Beziehung mit  $[\eta] = 5,199 \cdot 10^{-3} \cdot M^{0,63}$  ermittelt, die aber nur einen Regressionskoeffizienten von 0,94 aufweist. Auch der Aufweitungsparameter  $a$  ist mit 0,63 viel zu groß, sodass diese Struktur-Eigenschafts-Beziehung eine Beschreibung der mathematischen Verhältnisse entspricht.

Der durchschnittliche Substitutionsgrad der Acetylstärken wurde vom Projektpartner, Herrn Dr. Liebert, via *NMR*-Spektroskopie untersucht und sind in der Tabelle 21 aufgeführt. Dabei wurden die Proben sowohl per  $^{13}\text{C}$ - als auch mittels  $^1\text{H}$ -*NMR*-Spektroskopie untersucht. Für die Untersuchung via  $^1\text{H}$ -*NMR*-Spektroskopie wurden die Acetylstärken perpropionyliert und der *DS* mittels Doppelbestimmung über Acetat- und Propionat-Protonen durchgeführt [147]. Mit der kombinierten Anlage *SEC/MALLS/RI* wurden die gewichtsmittleren Molmassen, die Molmassenverteilungen und die Verteilungsbreiten der 12 Acetylstärken charakterisiert. Das Brechungsindexinkrement  $dn/dc$  in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid wurde zu 0,141 ml/g bestimmt. Die Elutionsdiagramme der einzelnen Acetylstärken sind in den folgenden Abbildungen (51 bis 62) wiedergegeben. Dargestellt ist neben dem 90°-Lichtstreuendetektorsignal und dem Konzentrationssignal auch der Molmassenverlauf.

Die Probe AS288 wurde aus Amioca Stärke hergestellt und zeigte im Elutionsverlauf eine Auffälligkeit im 90°-Lichtstreusignal. Hier war neben dem Hauptpeak um 29 ml ein zweiter Peak bei einem Volumen zwischen 22,5 und 25 ml, der aber nicht basisliniengetrennt war. Im Verlauf des Konzentrationssignals ist dieser Peak nicht wieder zu finden. Es liegen hier große Teilchen in sehr geringer Konzentration vor, die vom Lichtstreuphotometer gut detektiert werden können, aber aufgrund der geringen Konzentration nur ein schwaches Konzentrationssignal liefern.

Bei dieser Probe sind nach dem enzymatischen Abbau die hochmolekularen Anteile nicht vollständig abgetrennt worden, was zu dieser Uneinheitlichkeit führte. Der Anteil der hochmolekularen Flanke an der Gesamtprobe beträgt weniger als 1 %. Dass der Einfluss der hochmolekularen Flanke nur sehr gering ist, sieht man auch an dem Vergleich der Staudingerindizes. Die Probe AS288 hat den kleinsten Staudingerindex  $[\eta]$  mit 13,3 cm<sup>3</sup>/g. Trotzdem wäre diese Acetylstärke aufgrund einer hochmolekularen Flanke ungeeignet für die

---

[147] Liebert, T., *Bericht zur Synthese von 2-O-Acetylstärke mit definierter Molmasse*, Arbeitsbericht **25.04.2002**

medizinische Anwendung als Blutplasmaersatzmittel. Die gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  wurde zu 240.000 g/mol bestimmt, mit einer Verteilungsbreite von 5,3. Dies war im Vergleich auch die größte Verteilungsbreite unter den Acetylstärken.

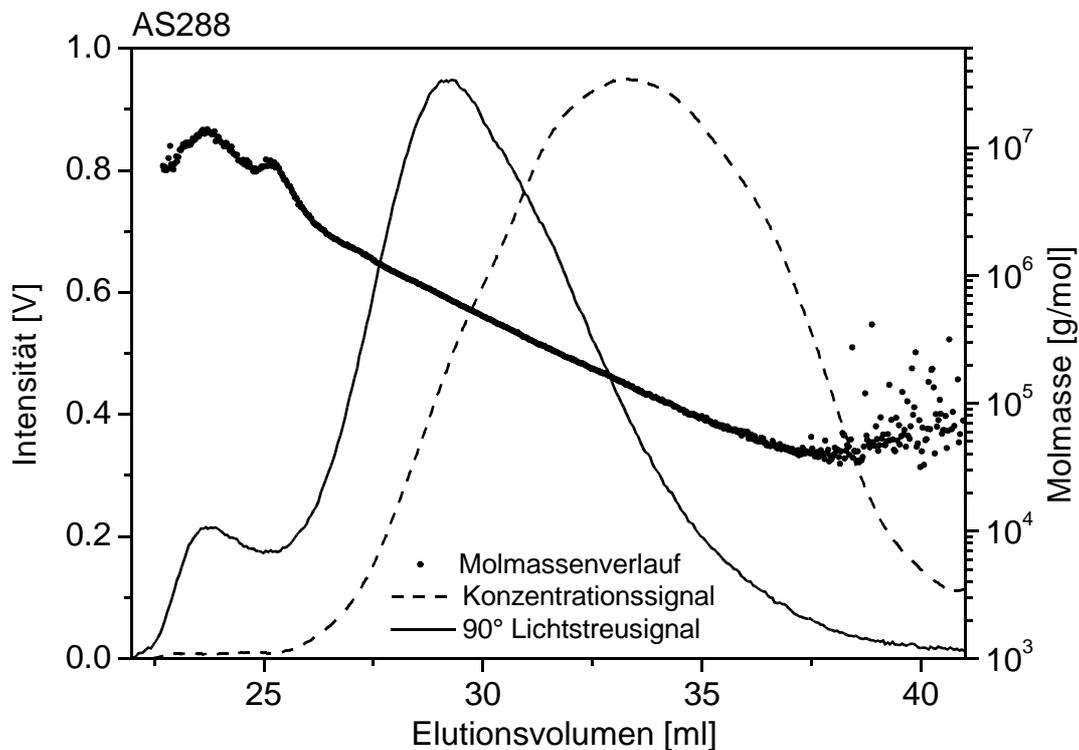


Abbildung 51: Elutionsdiagramm der Acetylstärke AS288 in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C. Dargestellt sind das 90°-Lichtstreusignal (—), das Konzentrationssignal (----) und der Molmassenverlauf (•).

Die folgenden Substanzen AS289, AS290, AS291 und AS292 wurden aus Wachsmaisstärke hergestellt. Die Acetylstärke AS289 in Abbildung 52 zeigte den Peak der Probe AS288 im Lichtstreusignal bei kleinem Elutionsvolumen nicht. Das Lichtstreusignal hatte einen monomodalen Verlauf ohne besondere Auffälligkeiten. Das Konzentrationssignal zeigte im Bereich zwischen 29 und 33 ml einen bauchigen Verlauf vor dem eigentlichen Maximum. Die gewichtsmittlere Molmasse betrug 392.000 g/mol und die Verteilungsbreite 4,5. In Abbildung 53 ist das Elutionsdiagramm der Acetylstärke AS290 wiedergegeben, die eine gewichtsmittlere Molmasse von 324.000 g/mol mit einer Verteilungsbreite von 4,3 besitzt. Auch die beiden Proben AS291 mit einer Molmasse von 217.000 g/mol und AS292 mit einer Molmasse von 153.000 g/mol zeigten keine besonderen Auffälligkeiten in den Elutionsdiagrammen 54 und 55. Diese drei aus Wachsmaisstärke hergestellten Substanzen zeigen einen ähnlich monomodalen Verlauf wie die Hydroxyethylstärken im vorhergehenden Kapitel.

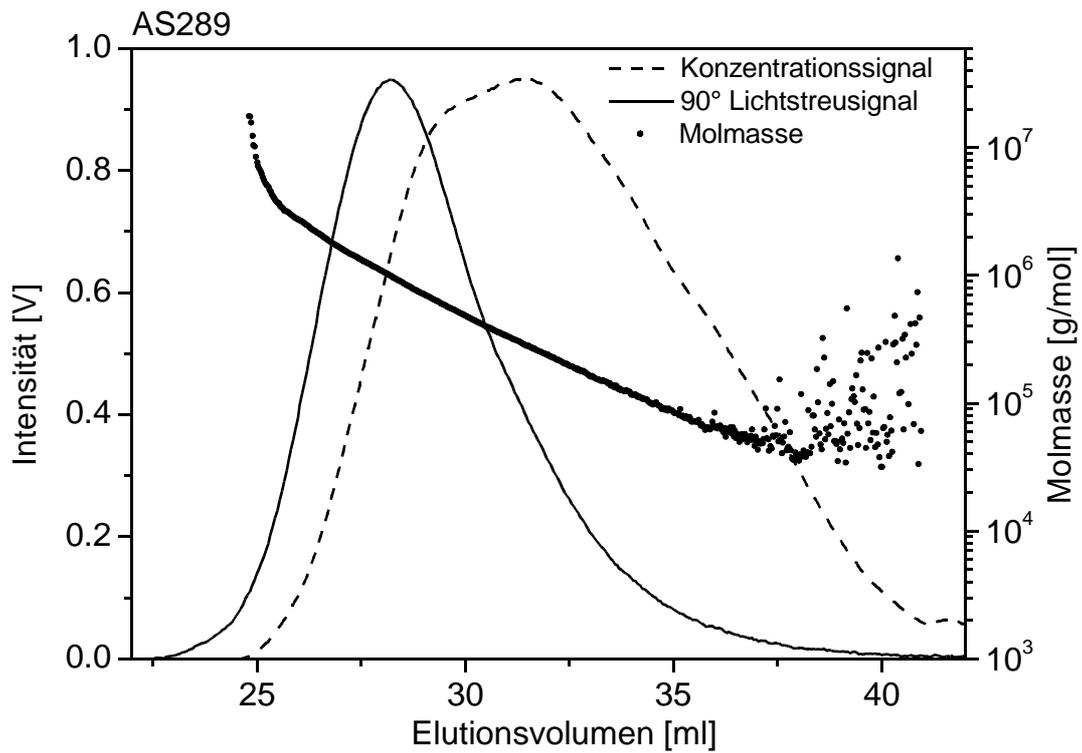


Abbildung 52: Elutionsdiagramm der Acetylstärke AS289 in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

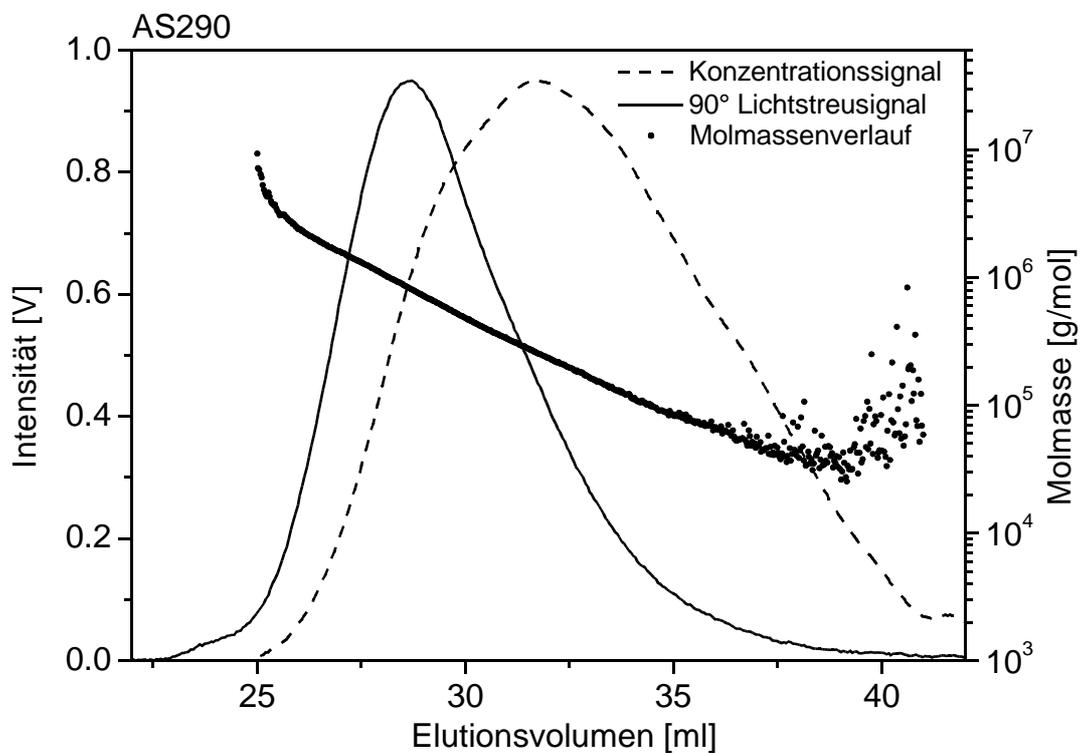


Abbildung 53: Elutionsdiagramm der Acetylstärke AS290 in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

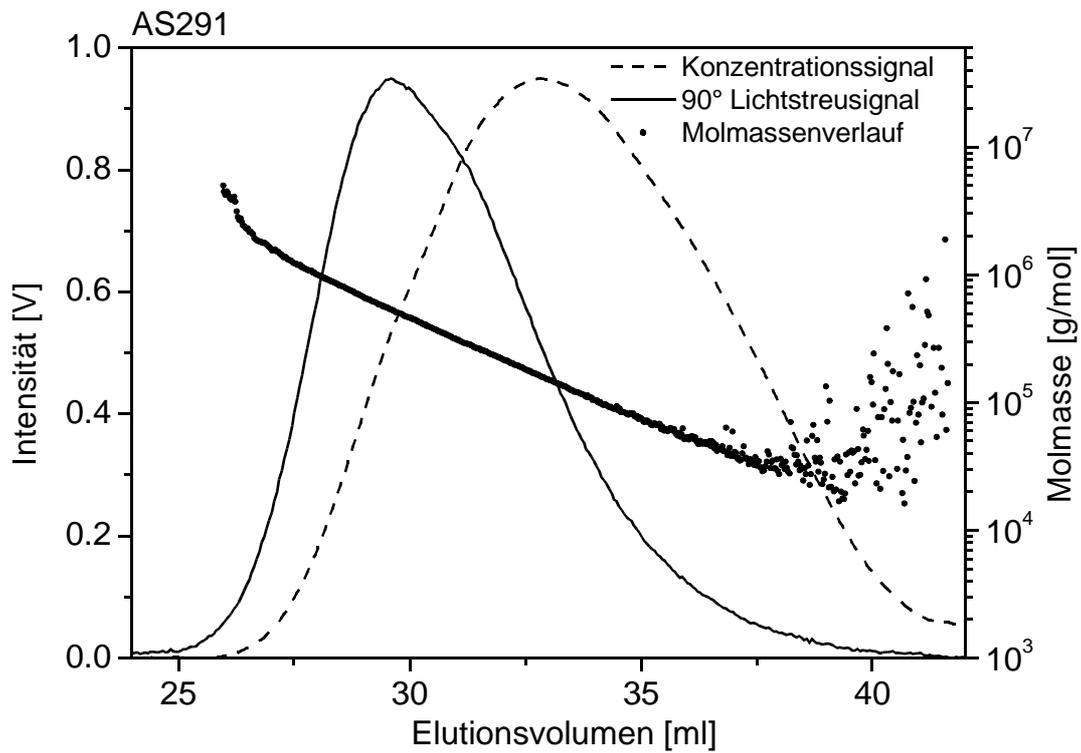


Abbildung 54: Elutionsdiagramm der Acetylstärke AS291 in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

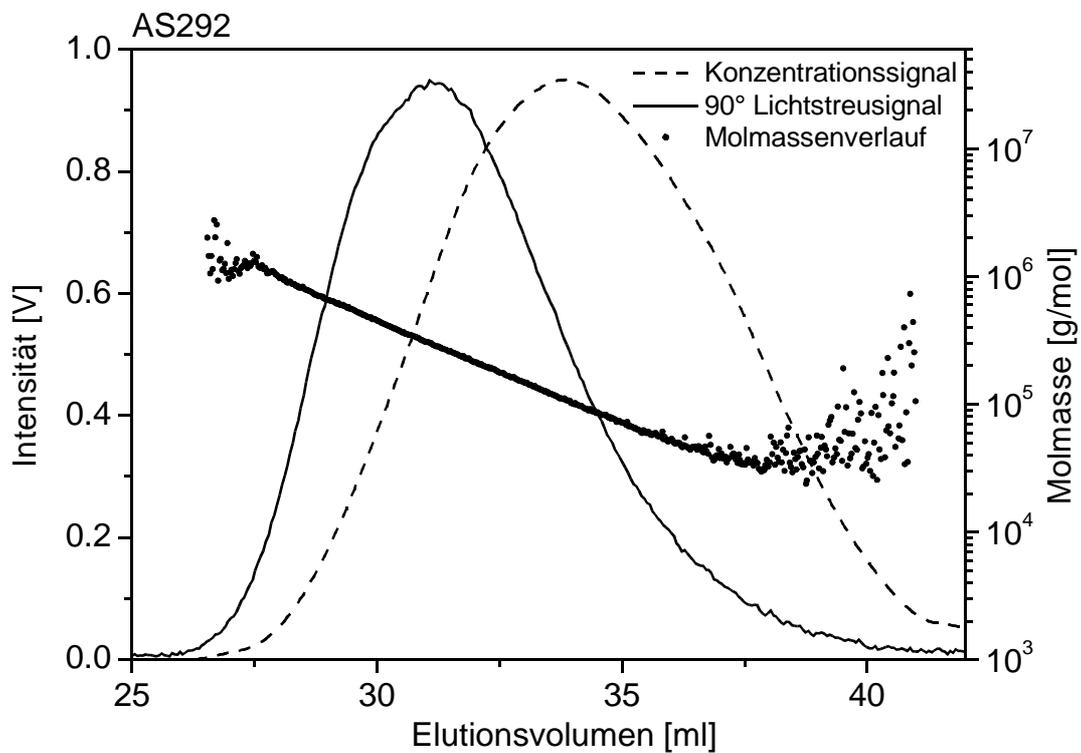


Abbildung 55: Elutionsdiagramm der Acetylstärke AS292 in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

Die nachfolgenden Proben AS294, AS295, AS296 und AS297 wurden aus Amioca Stärke hergestellt. Die Acetylstärke AS294 in Abbildung 56 zeigt sowohl eine Schulter bei 23 ml im Streulicht- als auch bei 30 ml im Konzentrationssignal.

Dieses Elutionsverhalten zeigen auch die drei Proben AS295, AS296 und AS297 in den Abbildungen 57, 58 und 59. Dabei tritt die Schulter direkt vor dem Peakmaximum des Konzentrationssignals auf. Die gewichtsmittleren Molmassen der Proben lagen zwischen 383.000 g/mol und 448.000 g/mol mit Verteilungsbreiten von 4,0 bis 4,2.

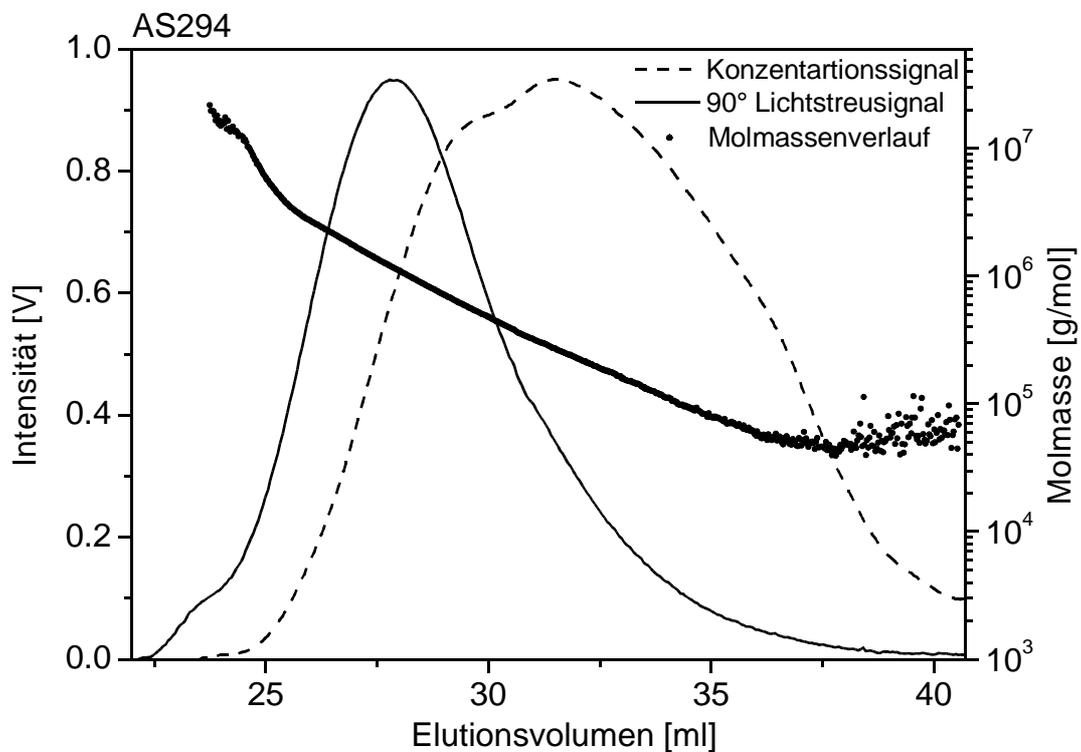


Abbildung 56: Elutionsdiagramm der Acetylstärke AS294 in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C. Dargestellt sind das 90-°-Lichtstreusignal (—), das Konzentrationssignal (----) und der Molmassenverlauf (•).

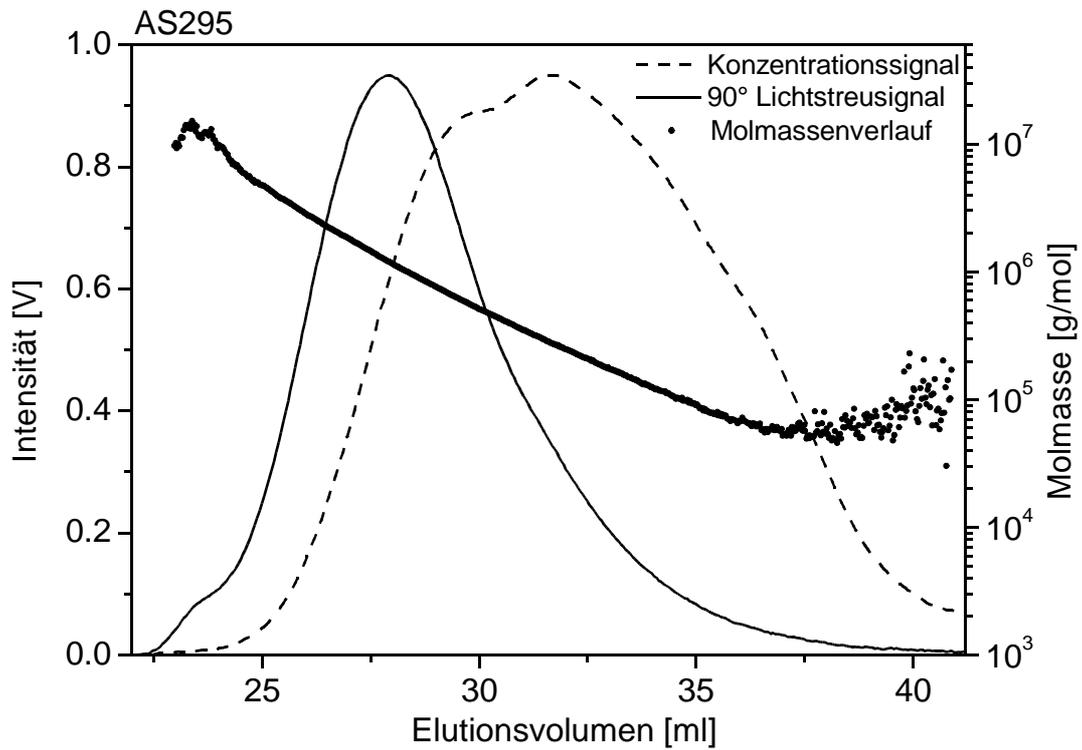


Abbildung 57: Elutionsdiagramm der Acetylstärke AS295 in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

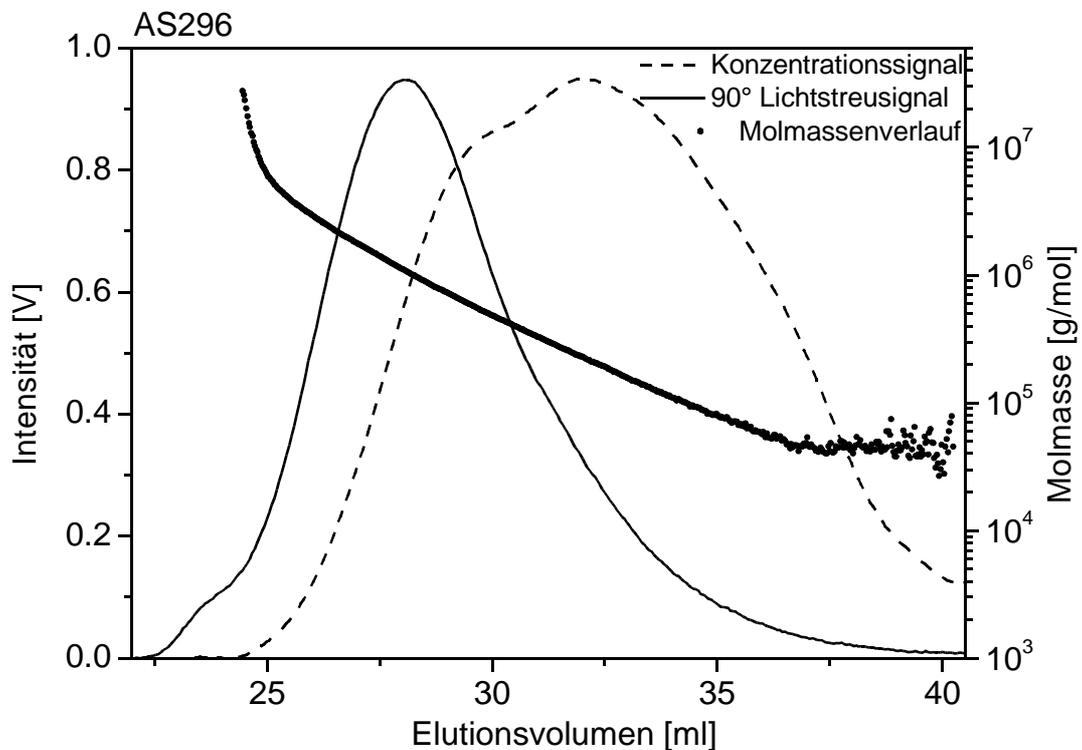


Abbildung 58: Elutionsdiagramm der Acetylstärke AS296 in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

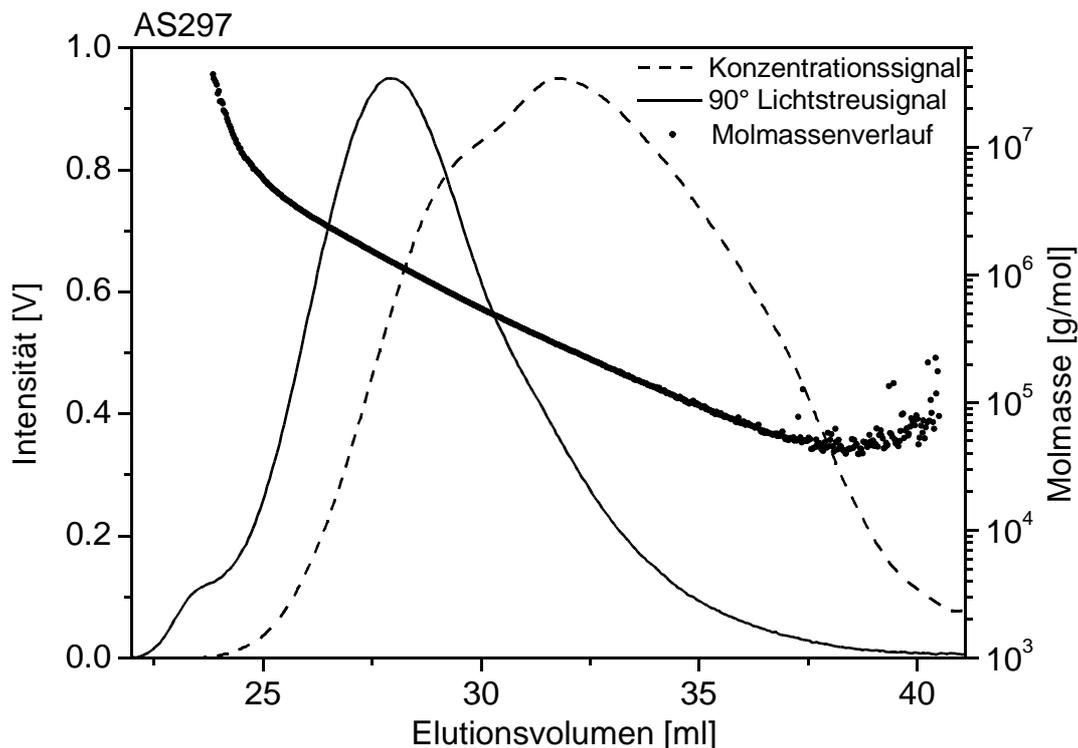


Abbildung 59: Elutionsdiagramm der Acetylstärke AS297 in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C. Dargestellt sind das 90-°-Lichtstreuungssignal (—), das Konzentrations-Signal (----) und der Molmassenverlauf (·).

Die Acetylstärke AS298a in Abbildung 60 zeigt ähnlich wie die Probe AS288, auf Seite 95 in Abbildung 51, einen Peak im Lichtstreuungssignal. Dieser liegt im Elutionsbereich von 22,5 bis 25 ml und hat analog der Probe AS288 nur einen Anteil von weniger als 1 %. Diese Probe wäre für medizinische Zwecke nicht geeignet. Auch hier gelten dieselben Aussagen, die schon bei der Acetylstärke AS288 gemacht wurden. Auch die zur Herstellung verwendete Stärke ist in diesem Fall identisch, da Amioca Stärke eingesetzt wurde, was auch für die Probe AS299 gilt.

In Abbildung 61 weist die Acetylstärke AS299 einen monomodalen Verlauf der beiden Signale auf. Das Konzentrations-Signal besitzt bei 32,5 ml eine Schulter, die aber im Gegensatz zu den Proben AS294 bis AS297 nach dem Peakmaximum des Konzentrations-Signals erscheint. Auch die Schulter im Lichtstreuungssignal bei den Proben AS294 bis AS297 ist bei der Acetylstärke AS299 nicht zu finden. Mit einer gewichtsmittleren Molmasse von 598.000 g/mol war die AS299 die größte Acetylstärke im Probensatz, die eine Verteilungsbreite von 4,3 hatte.

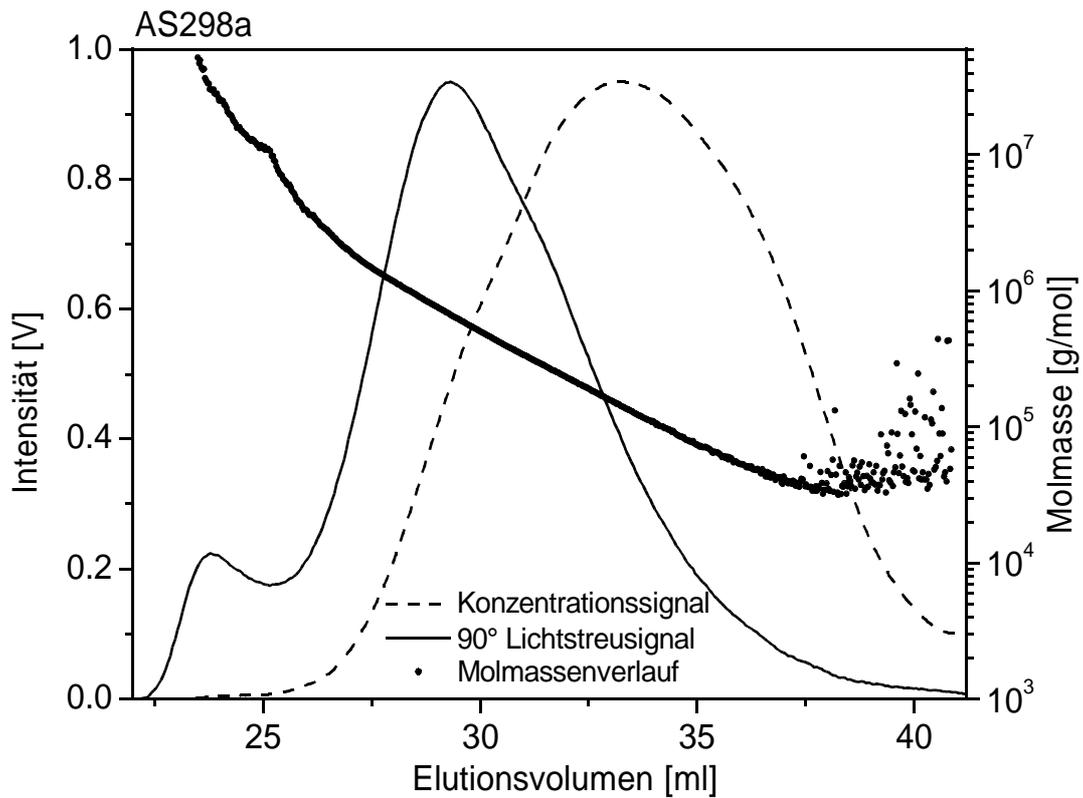


Abbildung 60: Elutionsdiagramm der Acetylstärke AS298a in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

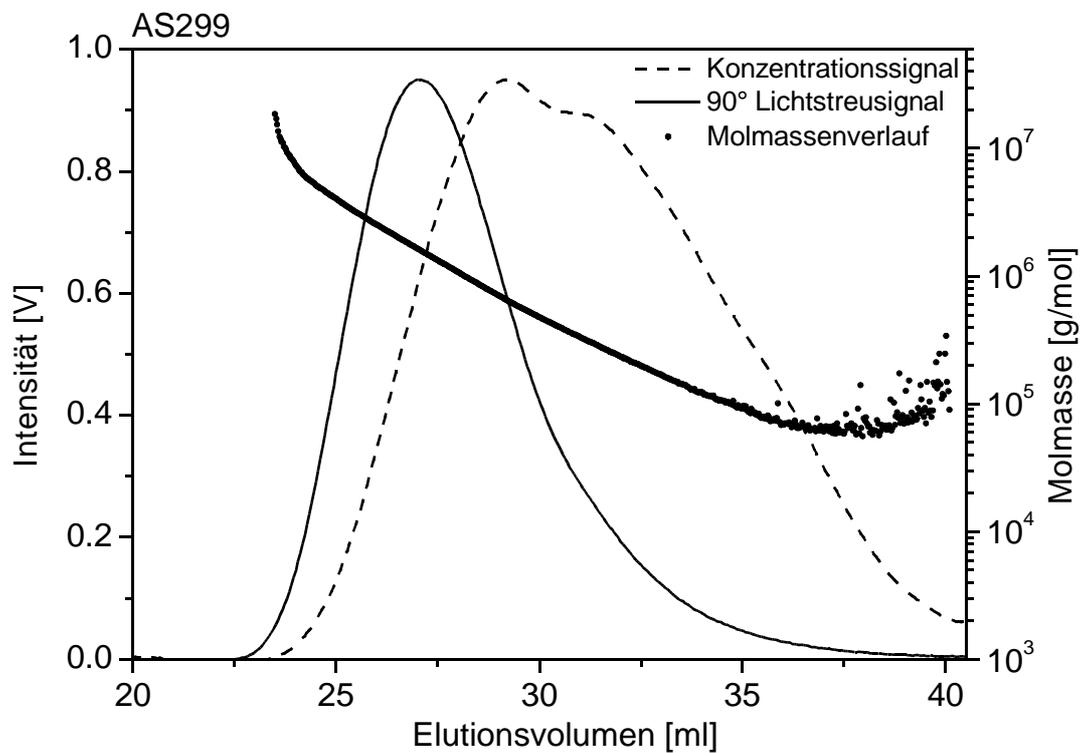


Abbildung 61: Elutionsdiagramm der Acetylstärke AS299 in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

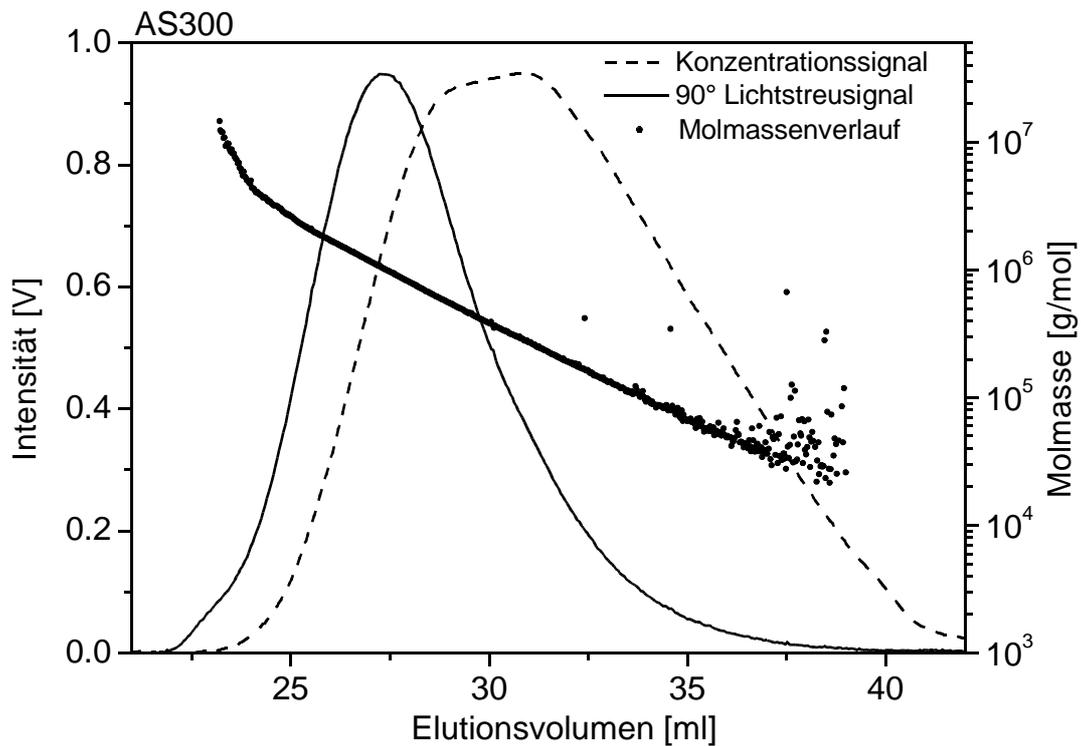


Abbildung 62: Elutionsdiagramm der Acetylstärke AS300 in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C. Dargestellt sind das 90°-Lichtstreuungssignal (—), das Konzentrationssignal (----) und der Molmassenverlauf (•).

Die Acetylstärke AS300 wurde wieder aus Wachsmaisstärke synthetisiert und hatte eine Verteilungsbreite von 3,8 mit einer gewichtsmittleren Molmasse von 426.000 g/mol. Das Elutionsdiagramm zeigte für beide Signale einen monomodalen Verlauf. Zusammenfassend kann über die Acetylstärken gesagt werden, dass die gewichtsmittleren Molmassen von 150.000 bis 450.000 g/mol variierten und damit im einsatzrelevanten Molmassenbereich der Hydroxyethylstärke lagen. Nur die Probe AS299 hatte, wie man aus den viskosimetrischen Daten schon ableiten konnte, die höchste Molmasse von 598.000 g/mol. Die Polydispersität der zwölf Proben lag im Bereich von 2,1 bis 5,3. Die Messwerte für die Acetylstärken sind in Tabelle 21 zusammengefasst. Aus den Elutionsdiagrammen der Acetylstärken war zu erkennen, dass die Probe AS288 in Abbildung 51 und die AS298a in Abbildung 60 eine ausgeprägte Bimodalität im Streulichtsignal zeigen, die bei der Acetylstärke AS288 am ausgeprägtesten ist. Das Maximum im hochmolekularen Bereich ist aber nicht im Konzentrationssignal zu sehen, hier liegen hochmolekulare Anteile in sehr geringer Konzentration vor. Bei den Proben AS294, AS295, AS296 und AS297 in den Abbildungen 56 bis 59 sind im hochmolekularen Bereich des Lichtstreuungssignals nur noch leichte Schultern zu

erkennen, die bei den Acetylstärken AS289, AS290, AS291, AS292, AS299 und AS300 in den Abbildungen 52, 53, 54, 55, 61 und 62 nicht mehr vorhanden sind. Außerdem zeigen die Proben AS294, AS295, AS296, AS297 und AS299 Schultern im Konzentrationssignal.

Tabelle 21: Messergebnisse der Acetylstärken in 0,1 M NaNO<sub>3</sub> mit 200 ppm NaN<sub>3</sub> bei 25°C.

<i>Probe</i>	<i>DS</i>	<i>Mw</i> (g/mol)	<i>Mw/Mn</i>	<i>[η]</i> (cm <sup>3</sup> /g)	<i>WF</i> [wt %]	<i>Stärkequelle</i>
AS288	0,64	240.000	5,3	13,3	93	Amioca
AS289	0,85	392.000	4,5	15,5	87	WMS
AS290	0,81	324.000	4,3	15,2	88	WMS
AS291	0,80	217.000	2,1	n. b.	94	WMS
AS292	0,84	153.000	3,0	13,3	91	WMS
AS294	0,43	415.000	4,1	15,7	93	Amioca
AS295	0,80	447.000	4,2	16,3	90	Amioca
AS296	0,15	383.000	4,2	15,8	91	Amioca
AS297	0,88	448.000	4,0	18,1	90	Amioca
AS298a	0,72	242.000	3,7	13,5	91	Amioca
AS298b	0,64	252.000	3,8	n. b.	90	Amioca
AS299	0,43	598.000	4,3	25,7	86	Amioca
AS300	0,45	426.000	3,8	n. b.	91	WMS

Die Acetylstärken, die aus Amioca Stärke hergestellt wurden, hatten zum Teil Schultern und Bimodalitäten im hochmolekularen Bereich des Lichtstreuungssignals. Auch im Konzentrationssignal waren ausgeprägte Schultern zu erkennen. Dies war in diesem Ausmaße bei den Acetylstärken aus Wachsmaisstärke nicht zu sehen.

Zur Betrachtung der Molmassenverteilungen wurden die Acetylstärken entsprechend den gewichtsmittleren Molmassen mit den entsprechenden Hydroxyethylstärken verglichen. Das bedeutet, die Proben AS288, AS291, AS292 und AS298a wurden mit HES1 (Gruppe 1) und die restlichen mit HES2 (Gruppe 2) verglichen. Die Auftragungen sind in den folgenden beiden Abbildungen 63 und 64 aufgeführt. In der Gruppe 1 (Abbildung 63) sieht man deutlich, dass alle Acetylstärken außer der Probe AS292 einen größeren hochmolekularen Anteil haben, als HES1. Während die hochmolekulare Flanke der Probe AS291 genau wie HES1 bei ca. 2.000.000 g/mol endet, gehen die beiden Proben AS288 und AS298a darüber hinaus und zeigen Spuren bis 6.000.000 g/mol, was das Auftreten von Nebenreaktionen begünstigen könnte. Im niedermolekularen Bereich enden alle unterhalb von 10.000 g/mol.

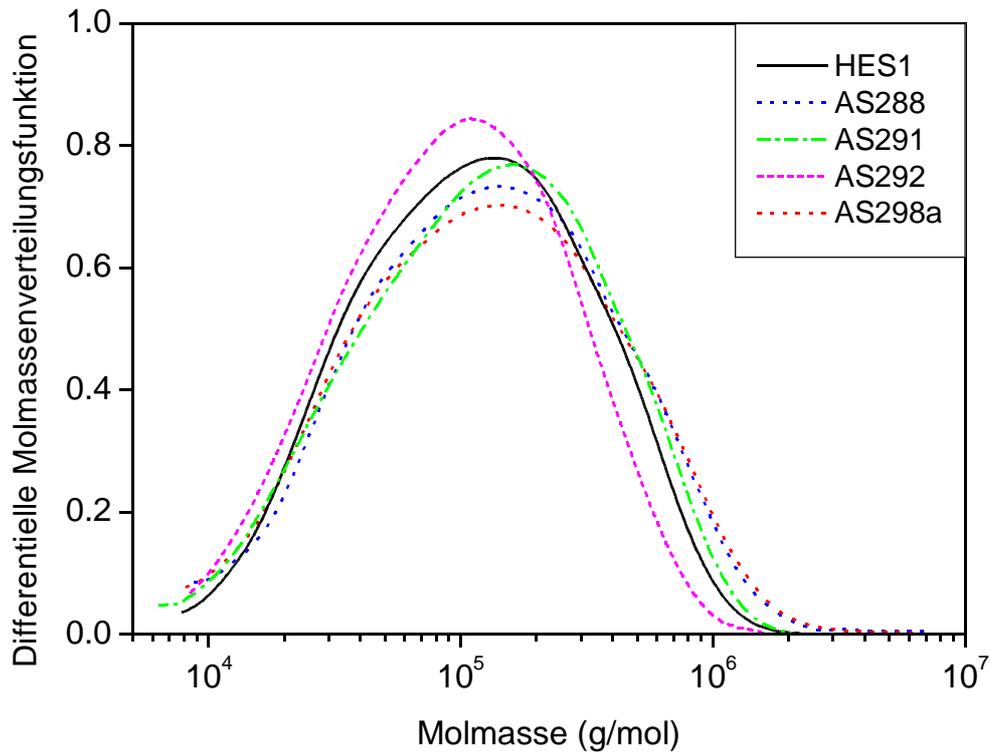


Abbildung 63: Differenzielle Molmassenverteilung der Acetylstärken AS288, AS291, AS292 und AS298a im Vergleich zur Hydroxyethylstärke HES1.

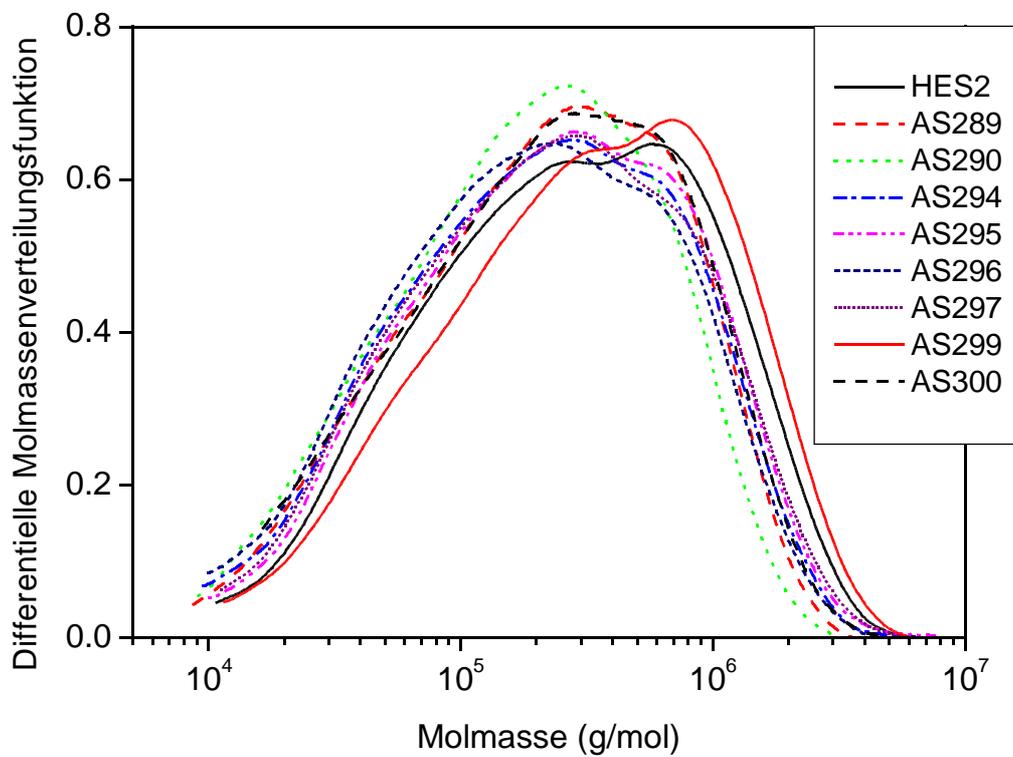


Abbildung 64: Differenzielle Molmassenverteilung der übrigen Acetylstärken im Vergleich zur Hydroxyethylstärke HES2.

In der zweiten Gruppe (Abbildung 64) fällt die Probe *AS299* auf, da sie die einzige Acetylstärke ist, die einen höheren hochmolekularen Anteil hat, als die Hydroxyethylstärke *HES2*. Alle anderen Acetylstärken beginnen im hochmolekularen Bereich, genau wie *HES2*, bei ca. 6.000.000 g/mol und enden bei ca. 10.000 g/mol. Die Acetylstärken zeigen entsprechend den beiden Gruppen eine gute Übereinstimmung in den Molmassenverläufen mit den Hydroxyethylstärken. Zur Eignung als Blutplasmaersatzmittel wurde nachfolgend die Lagerstabilität überprüft.

#### 4.4.1 Lagerstabilität der Acetylstärken

Für den Einsatz der Acetylstärken als medizinisches Produkt im Bereich der Blutplasmaersatzmittel ist nicht nur die Molmasse und Molmassenverteilung, sondern auch die Lagerstabilität in Lösung wichtig. Zielsetzung war die Bestimmung der Lagerstabilität von Acetylstärke in Lösung. Als Methoden kamen die kombinierte Anlage *SEC/MALLS/RI*, Viskosimetrie, NMR-Spektroskopie und die enzymatische Essigsäurebestimmung mittels *UV/VIS* zum Einsatz.

Um Abbaureaktionen durch biologische Verunreinigungen zu verhindern, müssen die Lösungen steril sein. Möglichkeiten für die Sterilisation der Lösungen sind die Röntgensterilisation, die Heißdampf-Druck-Sterilisation und die Sterilisierung mittels Bakterizid. Die Röntgensterilisation konnte im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. Kulicke und bei dem Projektpartner, Herrn Prof. Dr. Heinze, nicht durchgeführt werden, da keine entsprechenden Anlagen zur Verfügung standen.

Die Heißdampf-Druck-Sterilisation wurde über einen Zeitraum von 20 Minuten bei 130°C durchgeführt. Analog eines Autoklaven wurde hier mit hoher Temperatur unter Druck gearbeitet. Die Problematik dabei ist, dass es unter diesen Bedingungen zu einer Degradation kommen kann. Zur Überprüfung wurden drei Acetylstärken ausgewählt und jeweils eine Lösung angesetzt. Das Probenvolumen wurde geteilt, wobei der eine Teil unbehandelt blieb und der andere Teil per Heißdampf-Druck-Sterilisation behandelt wurde. Die gewichtsmittlere Molmasse der sterilisierten Proben lag bei allen unter denen der nicht sterilisierten, was auf eine thermische Degradation hin deutete. Aus diesem Grund wurden die Lösungen alle in 0,1 M NaNO<sub>3</sub>-Lösung mit 200 ppm Natriumazid als Bakterizid angesetzt.

#### 4.4.1.1 Lagerstabilität mittels Viskosimetrie

Eine wichtige Methode zur Kontrolle der Lagerstabilität stellt die Viskosimetrie dar. Hier kann mittels Einpunktmessungen [122] die relative Viskosität  $\eta_{rel}$  ermittelt und über die Lagerzeit verglichen werden. Von den beiden Acetylstärken AS297 und AS299 wurde jeweils eine Lösung in einer 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid angesetzt. Zur Überprüfung der Lagerstabilität in anderen Lösungsmitteln bzw. Lösungsmittelsystemen wurde die Acetylstärke AS299 zusätzlich noch in bidestilliertem Wasser, isotonischer Kochsalzlösung und in einem Phosphatpuffersystem ( $KH_2PO_4/K_2HPO_4$  bei  $pH$  7) vermessen. Die Einwaagen sind in der Tabelle 22 wiedergeben. Die Konzentrationen der Probelösungen wurden so gewählt, dass die Durchlaufzeiten im Bereich der 1,5 fachen Durchlaufzeit des reinen Lösungsmittels liegen, was aus den viskosimetrischen Bestimmungen der Staudingerindizes abgeschätzt werden konnte (siehe Seite 93).

Tabelle 22: Einwaagen der Probelösungen für die Bestimmung der relativen Viskosität  $\eta_{rel}$ .

<i>Acetylstärke</i>	<i>Lösungsmittel</i>	<i>Einwaage</i> <i>[g]</i>	<i>Lösungsmittel</i> <i>[ml]</i>	<i>Konzentration</i> <i>[g/ml]</i>
AS299	0.1 M NaNO <sub>3</sub> + 200 ppm NaN <sub>3</sub>	4,504	199,906	0,022
AS299	Bidest. Wasser	4,506	200,265	0,022
AS299	Isotonische Kochsalzlösung	4,494	200,103	0,022
AS299	Phosphatpuffer pH 7 ( $KH_2PO_4/K_2HPO_4$ )	4,700	203,77	0,023
AS297	0.1 M NaNO <sub>3</sub> + 200 ppm NaN <sub>3</sub>	4,769	200,712	0,023

Die Begründung für die Verwendung von mehreren Lösungsmitteln bei der Acetylstärke AS299 sollen im folgenden dargelegt werden. Um Abbaureaktionen durch herstellungsbedingte Verunreinigungen (z.B. Imidazol) bezüglich der  $pH$ -Neutralität auszuschließen, wurde eine Lösung in einem Dihydrogenphosphat/Hydrogenphosphat-Puffer bei  $pH$  7.0 angesetzt, welcher auch ein Bestandteil des menschlichen Blutpuffersystems [148]

[122] Kulicke, W.-M., Clasen, C., *Viscosimetry of Polymers and Polyelectrolytes*, Springer Verlag, Berlin, **2004**

[148] Vogel, G., Angermann, H., *DTV-Atlas zur Biologie Tafeln und Texte Band 2*, 6. Auflage, Deutscher Taschenbuch Verlag, München, **1992**

darstellt. Die isotonische Kochsalzlösung wurde deshalb gewählt, weil es bei Plasmaersatzmitteln als Basis verwendet wird. Die Lösung in bidest. Wasser wurde als Referenz ohne Bakterizid verwendet.

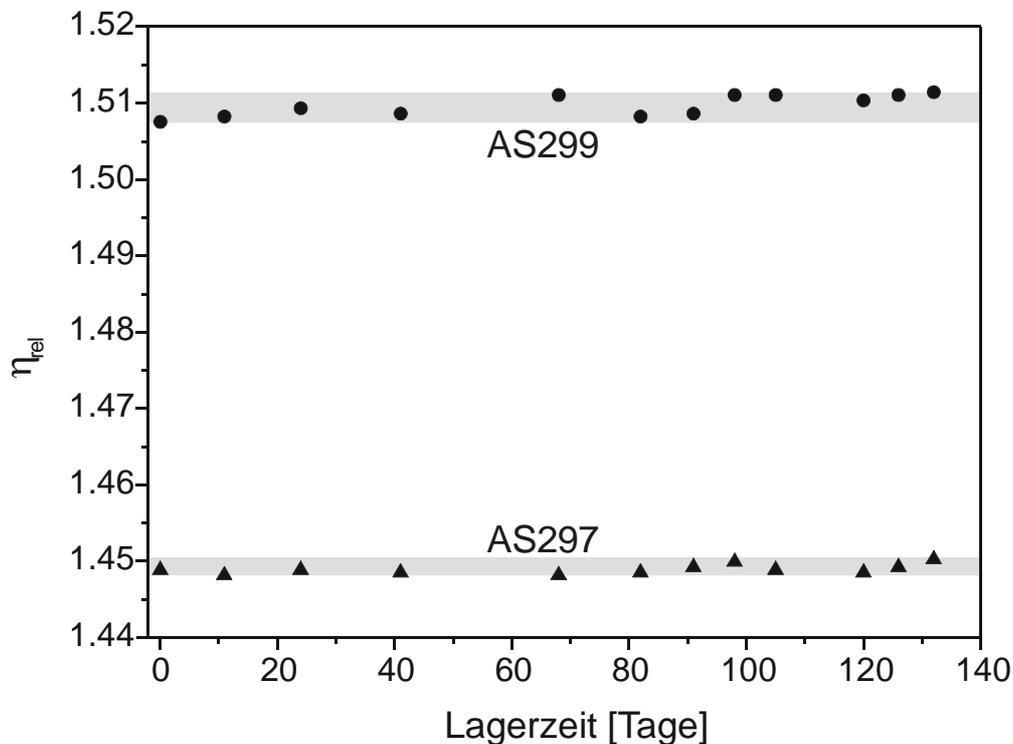


Abbildung 65: Auftragung der relativen Viskosität  $\eta_{rel}$  der beiden Acetylstarcken AS299 und AS297 in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C in Abhängigkeit der Lagerzeit.

Die Werte für die relative Viskosität  $\eta_{rel}$  in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid zeigten keine Veränderungen, sie schwankten sowohl für AS299 als auch für AS297 um eine bestimmte relative Viskosität. Dies ist in Abbildung 65 für die beiden Acetylstarcken dargestellt. Die Schwankungen liegen bei beiden innerhalb der dritten Nachkommastelle und damit innerhalb der Fehlergrenze.

Für die drei anderen Lösungsmittelsysteme, deren Messwerte in der Abbildung 66 aufgetragen sind, konnten Unterschiede detektiert werden. Während die relative Viskosität in der isotonischen Kochsalzlösung ähnlich stabil war, wie die mit Bakterizid, war bei den Messungen mit Phosphatpuffer eine geringe Abnahme von 1,504 auf 1,481 ersichtlich. Eine ausgeprägte Abnahme der relativen Viskosität zeigte die Lösung in bidest. Wasser. Hier fiel der Wert von Anfangs 1,420 auf 1,303 nach 132 Tagen Lagerung. Die Messwerte der viskosimetrischen Einpunktmessungen sind in der Tabelle 23 aufgeführt.

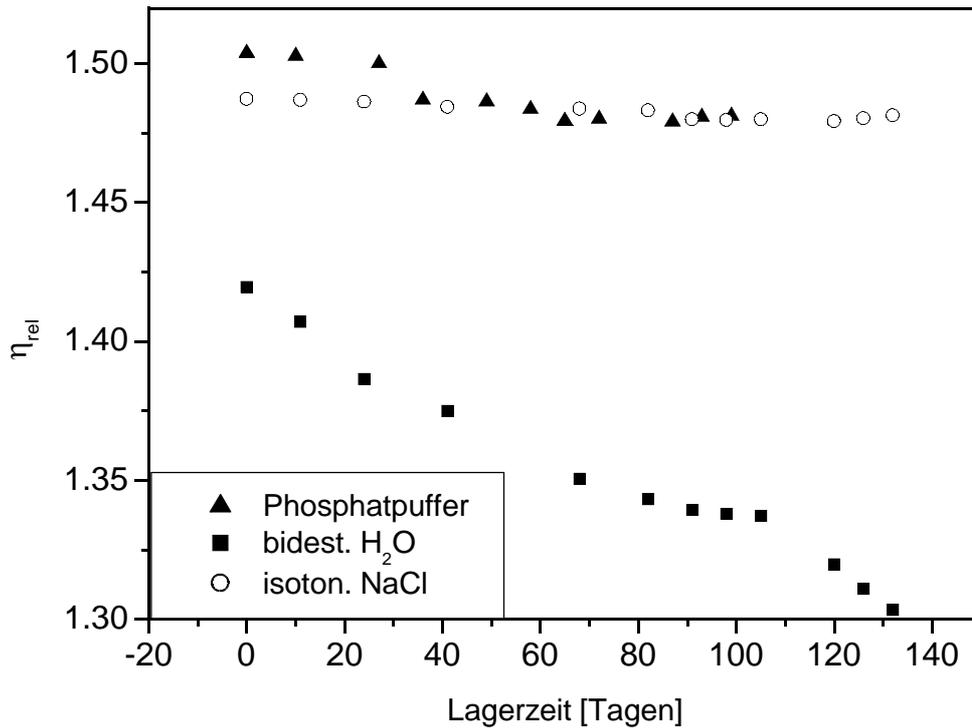


Abbildung 66: Auftragung der relativen Viskosität  $\eta_{rel}$  in Abhängigkeit der Lagerzeit für die Acetylstarke AS299 in den Lösungsmitteln Phosphatpuffer, bidest. Wasser und isotonische Kochsalzlösung.

Tabelle 23: Messwerte der viskosimetrischen Einpunktmessungen für AS297 und AS299.

	AS297		AS299			
Lagerzeit [Tagen]	NaNO <sub>3</sub> mit 200 ppm NaN <sub>3</sub>	NaNO <sub>3</sub> mit 200 ppm NaN <sub>3</sub>	Isoton. NaCl	bidest. Wasser	Lagerzeit [Tagen]	Phosphatpuffer KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
	$\eta_{rel}$	$\eta_{rel}$	$\eta_{rel}$	$\eta_{rel}$		$\eta_{rel}$
0	1,449	1,508	1,487	1,420	0	1,504
11	1,448	1,508	1,487	1,407	10	1,503
24	1,449	1,509	1,486	1,387	27	1,500
41	1,449	1,509	1,485	1,375	36	1,487
58	1,448	1,511	1,484	1,351	49	1,486
82	1,449	1,508	1,483	1,343	58	1,484
91	1,449	1,509	1,480	1,339	65	1,480
98	1,450	1,511	1,480	1,338	72	1,480
105	1,449	1,511	1,480	1,337	87	1,479
120	1,449	1,510	1,480	1,320	93	1,481
126	1,449	1,511	1,480	1,311	99	1,481
132	1,450	1,511	1,481	1,303		

#### 4.4.1.2 Lagerstabilität mittels SEC/MALLS/RI

Zur Überprüfung der Lagerstabilität mittels der kombinierten Anlage *SEC/MALLS/RI* wurden neun Acetylstärken über 205 Tage in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid gelagert und mehrmals über diesen Zeitraum vermessen. Die neun Acetylstärken waren AS297, AS296, AS295, AS294, AS292, AS291, AS290, AS289 und AS288.

Entsprechend den Messdaten wurden die Proben in drei Gruppen eingeteilt. Die erste Gruppe, zu der die Acetylstärken AS292, AS291, AS290 und AS289 gehörten, wies eine Molmassenreduzierung von weniger als 5 % auf. Die zweite Gruppe, mit den Acetylstärken AS297, AS295, AS294 und AS288, hatte eine Molmassenreduzierung zwischen 5 bis 10 %. In der dritten Gruppe war nur die Probe AS296, die eine Molmassenreduzierung von mehr als 10 % zeigte. Die Werte der gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  bezüglich der Lagerzeit sind in der Tabelle 24 aufgelistet und in der Abbildung 67 graphisch dargestellt.

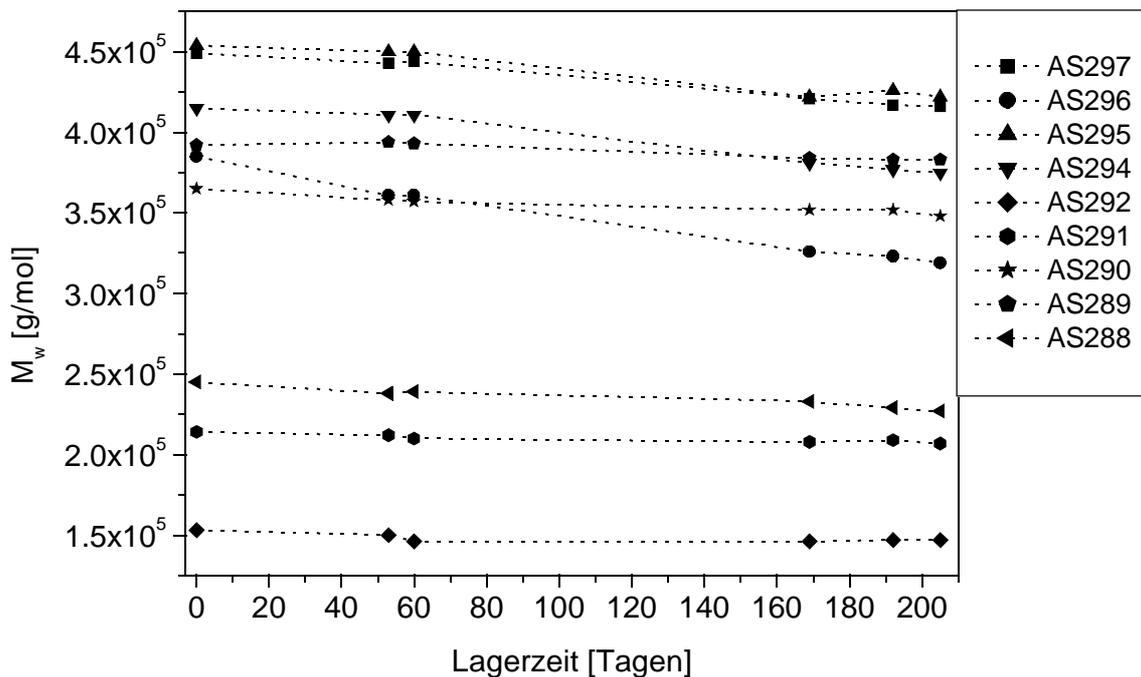


Abbildung 67: Auftragung der gewichtsmittleren Molmasse der 9 Acetylstärken in Abhängigkeit zu der Lagerzeit. Ermittelt in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

*Tabelle 24: Messdaten der gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  für die 9 Acetylstärken und die prozentuale Reduzierung nach 205 Tagen. Ermittelt in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.*

<b>Lagerzeit</b> [Tage]	<b><math>M_w/10^5</math> [g/mol]</b>								
	AS297	AS296	AS295	AS294	AS292	AS291	AS290	AS289	AS288
0	4,49	3,85	4,54	4,15	1,53	2,14	3,65	3,92	2,45
53	4,43	3,61	4,50	4,11	1,50	2,12	3,58	3,94	2,38
60	4,44	3,61	4,50	4,11	1,46	2,10	3,57	3,93	2,39
169	4,21	3,26	4,22	3,81	1,46	2,08	3,52	3,84	2,33
192	4,17	3,23	4,26	3,77	1,47	2,09	3,52	3,83	2,29
205	4,16	3,19	4,22	3,75	1,47	2,07	3,48	3,83	2,27
<b>Reduzierung</b> [wt %]	7,3	17,1	7,1	9,6	3,9	3,3	4,7	2,3	7,3

Zur Überprüfung der Lagerstabilität wurden nicht nur die gewichtsmittleren Molmassen  $M_w$ , sondern auch die Molmassenverteilungen der Acetylstärken über die Lagerzeit gemessen. Zur Übersichtlichkeit werden nicht alle differenziellen und kumulativen Molmassenverläufe des gesamten Probensatzes abgebildet. Es werden nur drei Graphen entsprechend den drei Gruppen dargestellt, wobei keine großen Unterschiede in den Molmassenverläufen innerhalb einer Gruppe bestanden.

Aus der ersten Gruppe (< 5 %; AS292, AS291, AS290 und AS289) wurden die Molmassenverteilungen der Probe AS291 in Abbildung 68 wiedergeben. Über die Lagerzeit von 205 Tagen reduzierte sich die gewichtsmittlere Molmasse von 214.000 g/mol auf 207.000 g/mol, was einer Reduzierung von 3,3 % entspricht. Entsprechend gering fallen auch die Unterschiede in der Molmassenverteilung aus. Dies gilt auch für die zweite Gruppe mit einer Molmassenreduzierung von weniger als 10 %. Auch in dieser Gruppe zeigen die Molmassenverteilungen nur geringe Unterschiede.

Die Acetylstärken aus der ersten Gruppe (AS292, AS291, AS290 und AS289) wurden aus Wachsmaisstärke synthetisiert und zeigten im Gegensatz zu den Acetylstärken aus Amioca (AS297, AS296, AS295, AS294 und AS288) eine geringere Molmassenreduzierung über die Lagerzeit. Es konnte aber nicht geklärt werden, warum die Acetylstärken aus unterschiedlichen Quellen ein anderes Lagerverhalten aufzeigen.

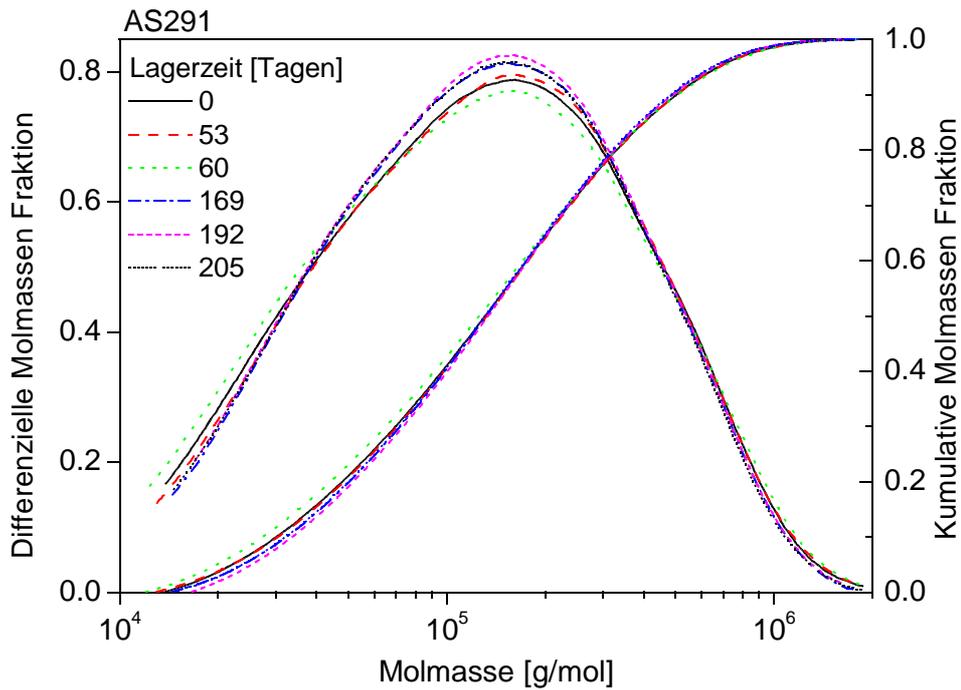


Abbildung 68: Auftragung des differentiellen und kumulativen Molmassenverlaufs der Acetylstärke AS291 über eine Lagerzeit von 205 Tagen bei Raumtemperatur in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

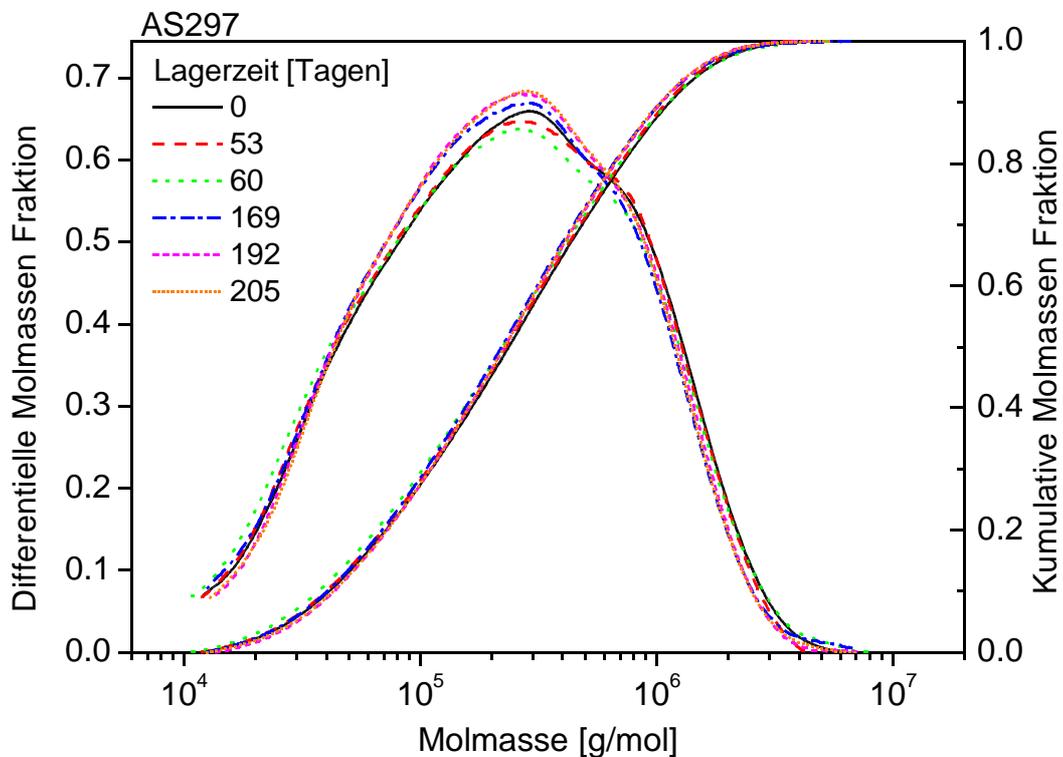


Abbildung 69: Differentielle und kumulative Molmassenverläufe der Acetylstärke AS297 über eine Lagerzeit von 205 Tagen bei Raumtemperatur in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

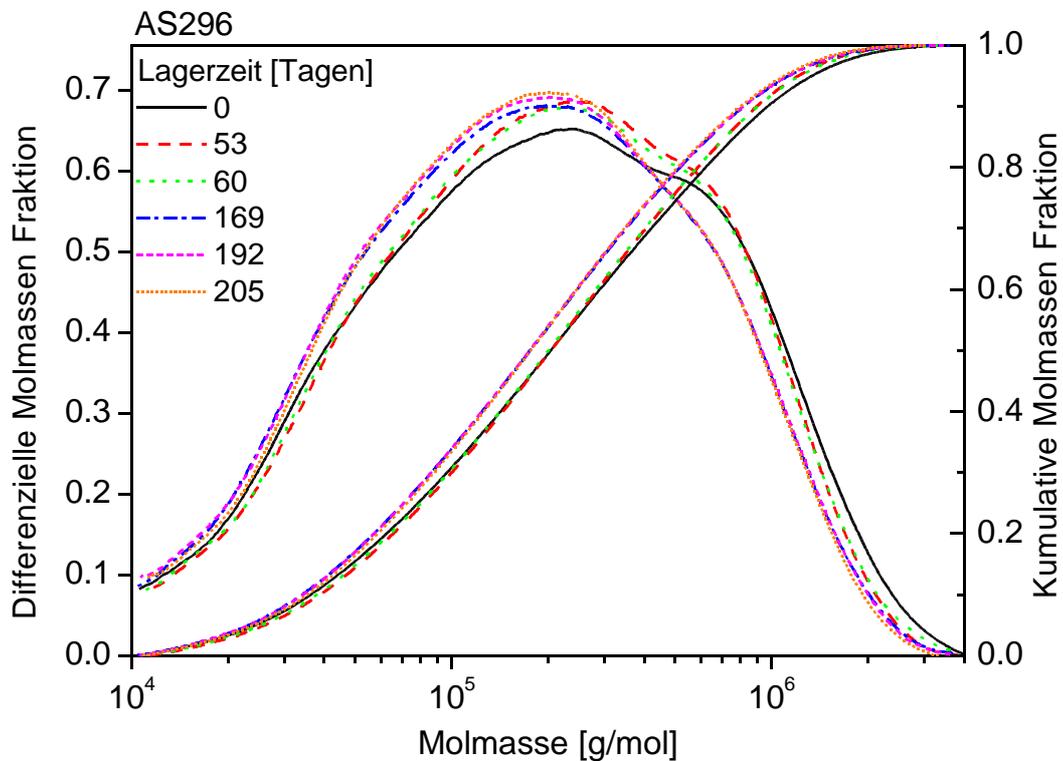


Abbildung 70: Differenzielle und kumulative Molmassenverläufe der Acetylstarke AS296 über eine Lagerzeit von 205 Tagen bei Raumtemperatur in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid..

Erst in der dritten Gruppe mit der Acetylstarke AS296, die eine Reduzierung der gewichtsmittleren Molmasse von ca. 17 % aufweist und somit außerhalb der Fehlergrenze der kombinierten Anlage liegt, zeigt sich in den beiden Auftragungen der Molmassenverläufe für die Messungen über 100 Tage Lagerzeit eine Veränderung im Kurvenverlauf. Die Änderung im Molmassenverlauf bezieht sich auf den Bereich der hochmolekularen Flanke von  $2 \cdot 10^6$  bis  $4 \cdot 10^4$  g/mol und kommt durch die Molmassenreduzierung von anfänglich 385.000 g/mol auf 326.000 g/mol und auf 319.000 g/mol nach 205 Tagen zustande.

#### 4.4.1.3 Lagerstabilität mittels enzymatischem Essigsäurenachweis

Bei der Acetylstärke handelt es sich im Gegensatz zur Hydroxyethylstärke um ein Esterderivat, welches bezogen auf eine Etherbindung weniger stabil ist und deshalb kann es zur Abspaltung von Essigsäure kommen. Aufgrund der geringen Menge von freisetzbare Essigsäure und der Problematik der basischen und sauren Hydrolyse der Esterbindung konnten klassische Methoden, wie titrimetrische Verfahren nicht eingesetzt werden. Zum Nachweis, der in Lösung freigesetzten Essigsäure während der Lagerung, wurde ein enzymatischer Essigsäurenachweis mittels *UV/VIS*-Spektroskopie durchgeführt. Dafür wurde ein Enzymkit der Firma Boehringer Mannheim GmbH (Darmstadt) verwendet, wobei die enzymatische Umsetzung von Essigsäure in Gegenwart von Acetyl-CoA-Synthetase (ACS) durch Adenosin-5'-triphosphat (ATP) und Coenzym A (CoA) zu Acetyl-Coenzym A (Acetyl-CoA) ausgenutzt wird. Die Reaktion für die Umsetzung ist in Abbildung 71 schematisch wiedergegeben [149].

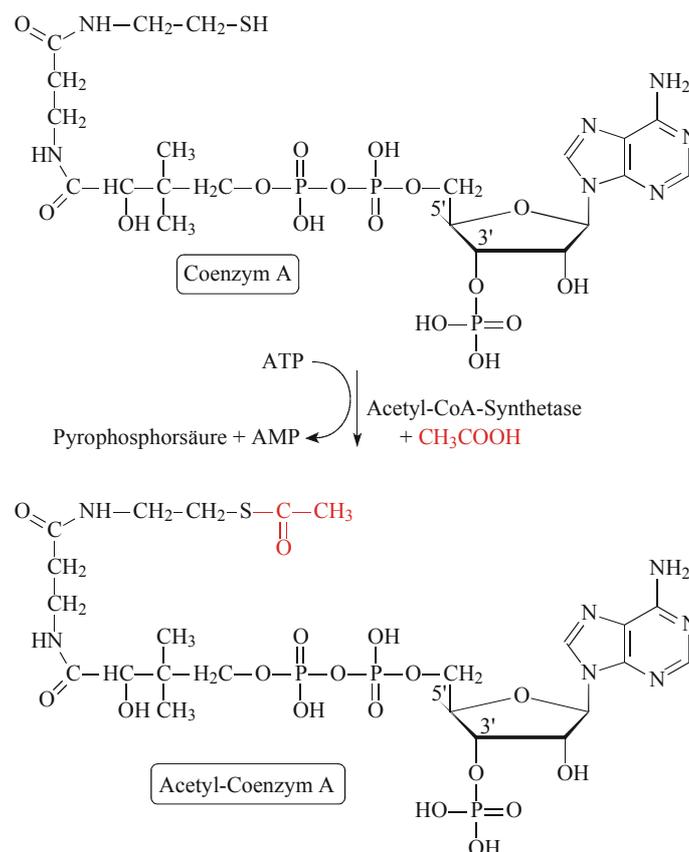


Abbildung 71: Reaktion für die Umsetzung von Essigsäure und Coenzym A durch Adenosin-5'-triphosphat ATP in Gegenwart von Acetyl-Coenzym-Synthetase zu Acetyl-Coenzym A.

[149] Matthies, D., *Biochemische Formelsammlung – Struktur und Funktion fundamentaler Biomoleküle*, 2. Auflage, AULA-Verlag, Wiesbaden, 1990

Die nächsten beiden Umsetzungen sind ein Teil vom Citrat-Zyklus, bei dem das Acetyl-Coenzym A mit Oxalacetat in Gegenwart von Citrat-Synthase *CS* zu Citrat und Coenzym A reagiert. Das Oxalacetat wird in einer vorgeschalteten Reaktion aus L-Malat und Nicotinamidadenindinucleotid *NAD* bei Anwesenheit von L-Malat-Dehydrogenase unter Reduzierung von Nicotinamidadenindinucleotid *NAD* zu *NADH* gebildet.

Die Bestimmung der Essigsäure erfolgte indirekt über die *NADH*-Bildung, wobei die Extinktionszunahme bei einer Wellenlänge von 340 nm bestimmt wurde. Aufgrund der vorgeschalteten Gleichgewichtsreaktion für das Oxalacetat besteht keine direkte lineare Proportionalität zwischen der Extinktionsdifferenz und der Essigsäurekonzentration. Zur Berechnung der Extinktionsdifferenz der Essigsäure  $\Delta E_{CH_3COOH}$  diente Gleichung 48. Dabei erfolgte die Messung der Extinktionen für die Probelösung und die Leerwertlösung in mehreren Stufen entsprechend den Herstellerangaben [150], weshalb man die Extinktionen  $E_0$ ,  $E_1$  und  $E_2$  für die beiden Lösungen erhielt.

$$\Delta E_{CH_3COOH} = \left[ (E_2 - E_0) - \frac{(E_1 - E_0)^2}{(E_2 - E_0)} \right]_{\text{Probe}} - \left[ (E_2 - E_0) - \frac{(E_1 - E_0)^2}{(E_2 - E_0)} \right]_{\text{Leerwert}}$$

Gleichung 48

Die Konzentration an Essigsäure  $c_{CH_3COOH}$  konnte mittels Gleichung 49 berechnet werden. Die einzelnen Variablen in der Gleichung sind das Gesamtvolumen der Messlösung  $V_{\text{Gesamt}}$ ; die Molmasse von Essigsäure  $M_{CH_3COOH}$ , die Extinktionsdifferenz der Essigsäure  $\Delta E_{CH_3COOH}$ , der Extinktionskoeffizient von *NADH* bei 340 nm  $\epsilon_{NADH_{340\text{nm}}}$ , die Schichtdicke  $d$  und das Probenvolumen  $V_{\text{Probe}}$ .

$$c_{CH_3COOH} = \frac{V_{\text{Gesamt}} \cdot M_{CH_3COOH} \cdot \Delta E_{CH_3COOH}}{\epsilon_{NADH_{340\text{nm}}} \cdot d \cdot V_{\text{Probe}} \cdot 1000} \left[ \frac{\text{g}}{\text{l}} \right]$$

Gleichung 49

Zur Messung der Essigsäureabspaltung während der Lagerzeit wurde die Acetylstarke AS292 ausgewählt, da es eine Probe mit ausreichender Substanzmenge und einem hohen durchschnittlichen Substitutionsgrad von 0,84 war. Die Acetylstarke AS292 wurde zweimal in bidestilliertem, sterilisiertem Wasser als 2,5 %-ige Lösung angesetzt. Eine Lösung wurde bei

[150] Boehringer Mannheim GmbH, *Benutzerinformation – Enzymkit Essigsäurenachweis*, 2003

Raumtemperatur gelagert und die zweite im Kühlschrank bei 5°C. Damit sollte gleichzeitig der Einfluss der Lagertemperatur überprüft werden. Die graphische Auftragung der Lagerzeitabhängigkeit der Essigsäurekonzentration ist in Abbildung 72 wiedergeben.

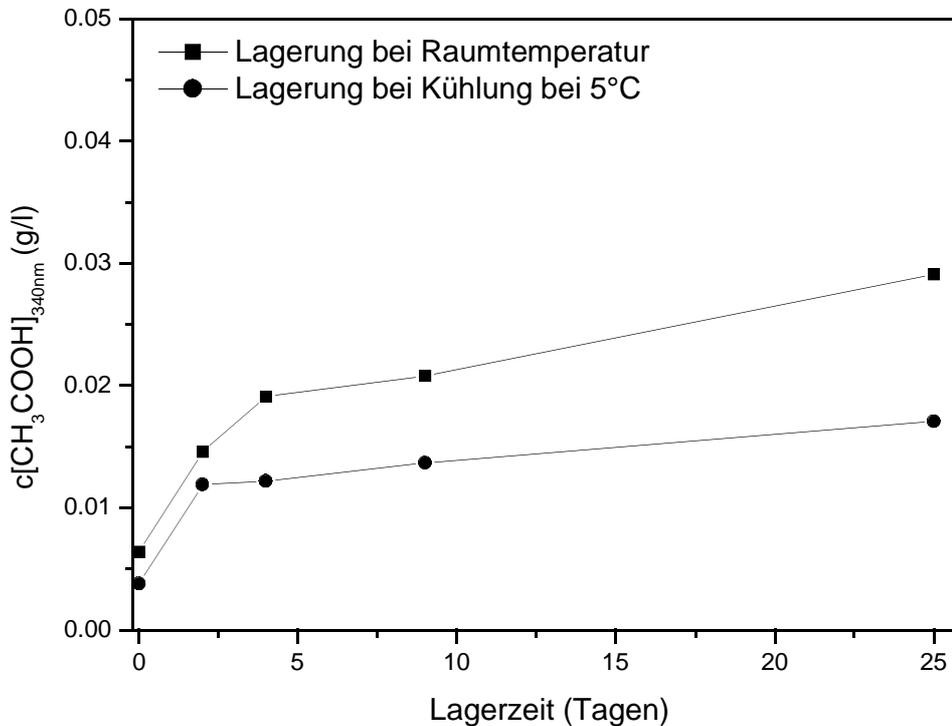


Abbildung 72: Essigsäurefreisetzung in Abhängigkeit der Lagerzeit.

Anhand der graphischen Auftragung ist zu erkennen, dass sowohl bei Raumtemperatur als auch bei 5°C in der Kühlung die Konzentration an freier Essigsäure mit der Lagerzeit ansteigt. Die Steigung im Bereich zwischen 2 und 25 Tagen ist bei der Lagerung in der Kühlung geringer. Auch die Differenz der Essigsäurekonzentration zwischen Lagertag 0 und 25 ist geringer, was auch bezüglich der Reaktionsgeschwindigkeits-Temperatur-Regel *RGT* zu erwarten war. Um eine Aussage über die prozentuale Menge an freigesetzter Essigsäure treffen zu können, wurde diese mit der maximalen freisetzbaren Essigsäuremenge ins Verhältnis gesetzt. Aus der Berechnung ergab sich, dass weniger als 0,5 % der Acetylsubstituenten als Essigsäure in den ersten 25 Tagen abgespalten wurden. Dies würde einer Änderung im durchschnittlichen Substitutionsgrad in der dritten Nachkommastelle entsprechen und wäre somit vernachlässigbar.

#### 4.4.1.4 Lagerstabilität mittels NMR-Spektroskopie

Die zeitabhängige Bestimmung des durchschnittlichen Substitutionsgrads  $DS$  wurde mittels  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie nach dem *IGATED*-Verfahren durchgeführt. Die NMR-Messungen wurden aufgrund der Erfahrungen mit der enzymatischen Essigsäurebestimmung monatlich durchgeführt. Die Lagerung erfolgte dabei in Deuteriumoxid  $D_2O$  ohne internen Standard direkt in den NMR-Röhrchen. Von den Proben AS299, AS297 und AS291 wurden jeweils 250 mg in 5 ml  $D_2O$  eingewogen. Die Lagerung erfolgte bei Raumtemperatur und die Messungen bei 25°C. Die Zuordnung der chemischen Verschiebung für die Kohlenstoffatome von Acetylstärke in Deuteriumoxid bezogen auf das DMSO-Signal sind in der Abbildung 73 aufgeführt.

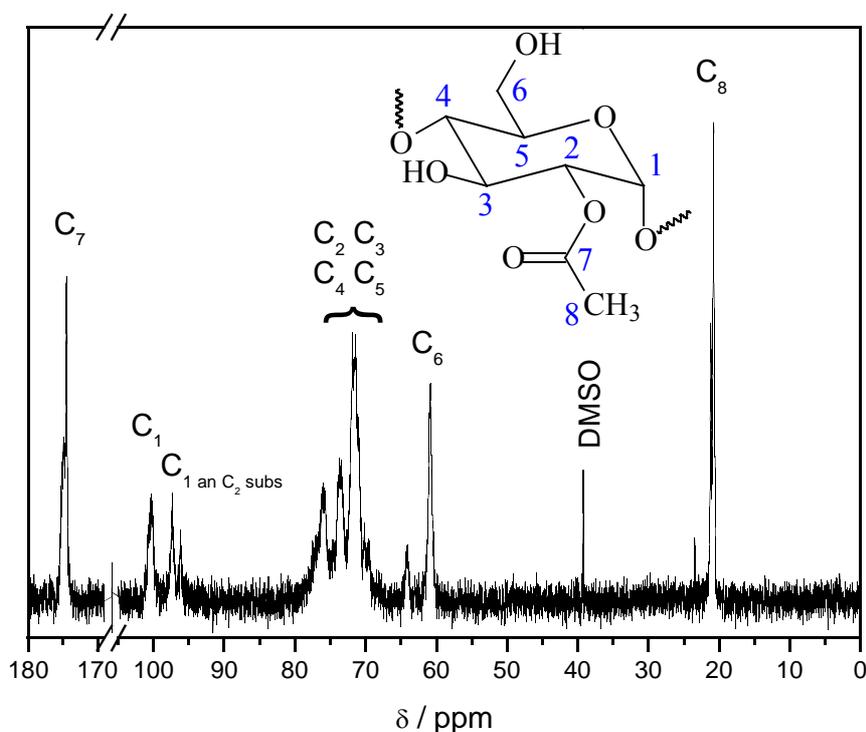


Abbildung 73: Die Zuordnung der chemischen Verschiebung für die Kohlenstoffatome von Acetylstärke in Deuteriumoxid bezogen auf das DMSO-Signal bei 25°C.

Die NMR-Spektren der drei Acetylstärken AS291, AS297 und AS299 sind in der Abbildung 74 dargestellt. Für die Signalzuordnung [151] wurde ein Referenzspektrum für Amylopektin [152] in  $D_2O$  herangezogen. Die Spektren der Acetylstärken AS291, AS297 und AS299 wurden ohne internen Standard vermessen. Die Spektren wurden deshalb auf DMSO bei 39,70 ppm gelockt,

[151] Hesse, M., Meier, H., Zeeh, B., *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 4. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1991

[152] [www.aist.go.jp/RIODB/SDBS/menue-e.html](http://www.aist.go.jp/RIODB/SDBS/menue-e.html)

welches in geringen Konzentrationen durch die Synthese in den Proben verblieben war.

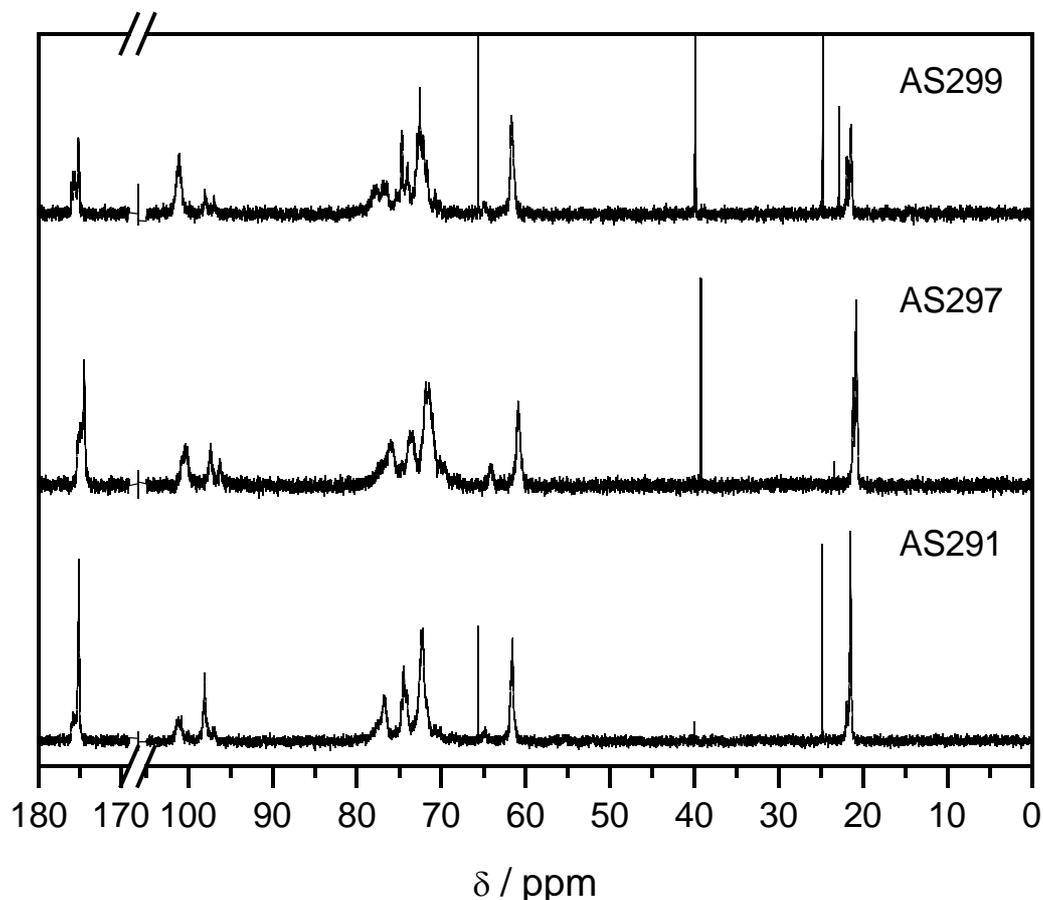


Abbildung 74: Die IGATED  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren der drei Acetylstärken in Deuteriumoxid ohne internen Standard bei  $25^\circ\text{C}$ .

Die Zuordnung für die drei Acetylstärken ist in der Tabelle 25 aufgeführt. Ausgewertet wurden dabei primär die Bereiche von 60 bis 65 ppm mit den Signalen der unsubstituierten und substituierten  $\text{C}_6$ -Funktion von 95 bis 102 ppm für die  $\text{C}_1$ -Funktion in direkter Nachbarschaft zu einem substituierten bzw. unsubstituierten  $\text{C}_2$  und die Region um 170 ppm für Kohlenstoffatome einer Carbonylfunktion ( $\text{C}_7$ ).

Tabelle 25: Aufstellung der chemischen Verschiebungen in ppm für die drei Acetylstärken.

Probe	$\text{C1}$	$\text{C1}_{\text{an C2 subs.}}$	$\text{C2, C3, C4, C5}$	$\text{C6}$	$\text{C7}$	$\text{C8}$
AS291	100,2	97,5	68 bis 80	61,2	174,1	21,4
AS297	100,4	97,5	68 bis 80	61,2	174,1	21,4
AS299	100,5	97,5	68 bis 80	61,4	174,1	21,4

Die lagerzeitabhängige Bestimmung der NMR-Spektren von den drei Acetylstärken führten zu den in der Tabelle 26 angegebenen durchschnittlichen Substitutionsgraden. Über die

Lagerzeit von 3 bzw. 5 Monaten zeigten die Proben AS299 und AS291 nur eine geringe Abnahme des durchschnittlichen Substitutionsgrads. Die Abnahme war bei der Probe AS297 ausgeprägter. In der Abbildung 75 sind die Werte der durchschnittlichen Substitutionsgrade der drei Acetylstärken für den direkten Vergleich normiert. Hieraus ist ersichtlich, dass sich alle drei Acetylstärken im ersten Monat bei der Reduzierung des  $DS$  gleich verhalten. Erst mit zunehmender Lagerzeit zeigen sich Unterschiede.

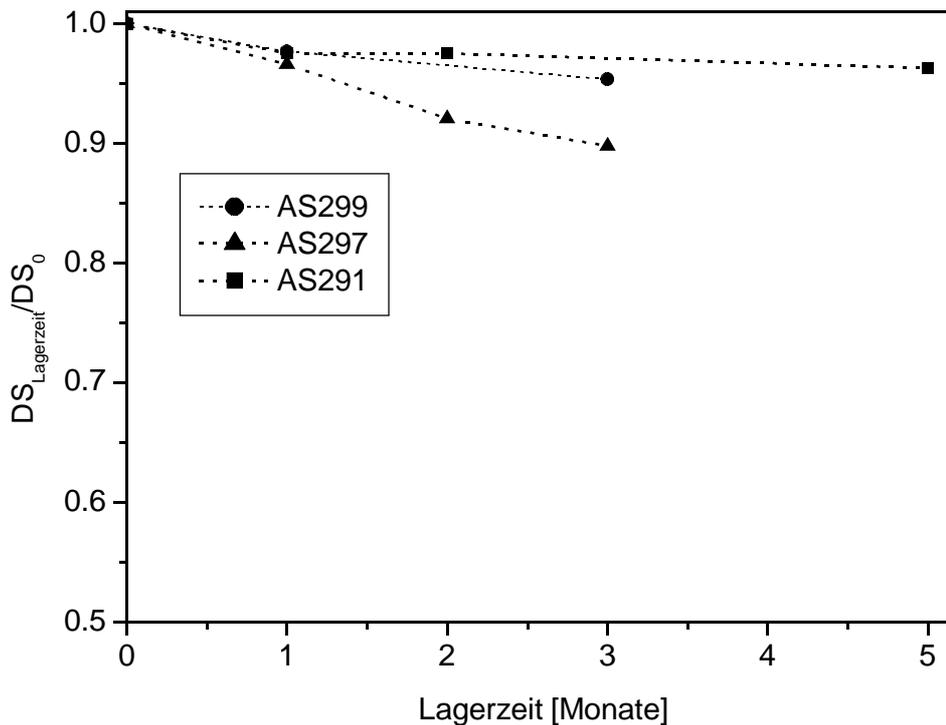


Abbildung 75: Normierter durchschnittlicher Substitutionsgrad ( $DS_{Lagerzeit}/DS_0$ ) in Abhängigkeit von der Lagerzeit für die drei Acetylstärken AS291, AS297 und AS299 ermittelt aus  $^{13}C$ -NMR-Messungen über eine maximale Lagerzeit von 5 Monaten.

Tabelle 26: Durchschnittlicher Substitutionsgrad  $DS$  in Abhängigkeit der Lagerzeit der drei Acetylstärken AS291, AS299 und AS297.

Lagerzeit (Monaten)	$DS_{AS299}$	$DS_{AS297}$	$DS_{AS291}$
0	0,43	0,88	0,80
1	0,42	0,85	0,78
2	n.b.*	0,81	0,78
3	0,41	0,79	n.b.*
5	n.b.*	n.b.*	0,77

\* n.b. = nicht bestimmt

---

Die Acetylstarcken AS299 und AS297 wurden nur über drei Monate bestimmt, da beide Probelösungen bei der erneuten Abgabe im vierten Monat einen Befall mit Mikroorganismen zeigten. Die Probe AS291 zeigte dies erst nach über 5 Monaten und wurde deshalb nicht weiter untersucht.

## 4.5 Methylcellulose MC

Methylcellulose *MC* ist ein Etherderivat der Cellulose und wird großtechnisch aus aktivierter Cellulose (Alkalicellulose) und Methylenchlorid als Methylierungsmittel in einer heterogenen Williamson-Ethersynthese hergestellt [8]. Die Reaktion führt zu statistischen Blockcopolymeren. Der Ausschnitt aus einer Methylcellulosekette ist in Abbildung 76, mit den beiden möglichen Resten -H und -CH<sub>3</sub>, dargestellt.

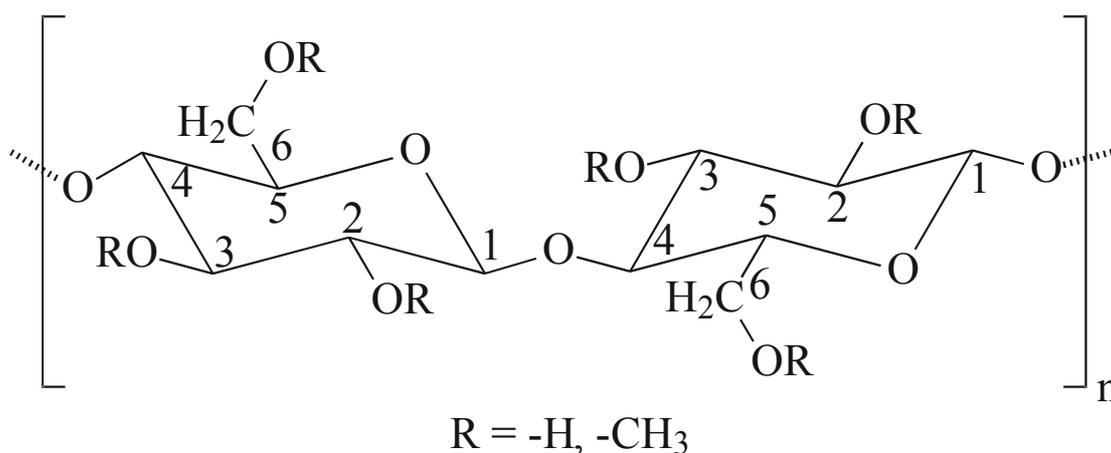


Abbildung 76: Ausschnitt aus einer Methylcellulosekette. Dargestellt ist eine Cellubioseeinheit mit den beiden Möglichkeiten für den Rest R.

Methylcellulosen sind toxikologisch unbedenklich und in Lösung über einen großen *pH*-Bereich von 3 bis 11 stabil. Sie zeigen die polymertypischen, verdickenden Eigenschaften. Eine weitere interessante Eigenschaft der Methylcellulosen ist die thermisch induzierte Gelbildung (Sol-Gel-Übergang), die beim Erwärmen erfolgt. Der Einfluss der Methoxylgruppe als hydrophober Substituent spiegelt sich in der thermisch induzierten Gelbildung wieder, wobei die Gelbildungstemperatur von dem Methylierungsgrad abhängt [153]. Durch die Erwärmung wird die Bildung von Aggregaten durch die hydrophoben Regionen herbeigeführt. Aufgrund der Hydrophobierung sind Methylcellulosen nur in einem bestimmten Fenster des durchschnittlichen Substitutionsgrads *DS* von ca. 1,4 bis 2,3 wasserlöslich. Wenn der *DS* zu klein ist, überwiegen die Wasserstoffbrückenbindungen (kristalline Bereiche der Cellulose) und das Derivat ist unlöslich. Auch wenn der *DS* zu hoch ist sind die Derivate unlöslich, da hier der hydrophobe Charakter überwiegt.

[8] *CD Römpf Chemie Lexikon*, Thieme Verlag, Stuttgart, 1995

[153] Kobayashi, K., Huang, C.-i, Lodge, T. P., *Thermoreversible Gelation of Aqueous Methylcellulose Solutions*, in: *Macromolecules*, 1999, 32, 7070-7077

Aufgrund der vielfältigen Eigenschaften der Methylcellulosen werden diese industriell in den unterschiedlichsten Bereichen eingesetzt [154] , [155] . In der Lebensmittelindustrie sind Methylcellulosen zu dem als Lebensmittelzusatzstoff *E460* zugelassen und werden dort als Stabilisator, Emulgator, Verdickungs-, Binde- oder Suspendiermittel eingesetzt. Des Weiteren werden Methylcellulosen noch in der Bau-, Erdöl- [156], Kosmetik-, Papier-, Pharma-, Leder-, Tabak- und Farbindustrie für die unterschiedlichsten Applikationen eingesetzt und dienen hier auch als Klebemittel, Gelbildner, Wasserretentionsmittel und Filmbildner [157].

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Methylcellulosen von DOW Chemicals und Schin-Etsu-Chemical Co Ltd. verwendet. Der Feuchtigkeitsgehalt der Proben wurde mittels Gefriertrocknung bis zur Massenkonstanz ermittelt. Der Feuchtigkeitsgehalt variierte zwischen 2,1 und 6,9 %. Er ist in der Tabelle 27 aufgeführt und wurde bei den weiteren Bestimmungsmethoden berücksichtigt.

Tabelle 27: Trockengehalte der sechs Methylcellulosen.

<i>Methylcellulose</i>	<i>MC1</i>	<i>MC2</i>	<i>MC3</i>	<i>MC4</i>	<i>MC5</i>	<i>MC6</i>
<b>Trockengehalt</b> [wt %]	93,1	96,2	97,9	95,8	96,5	95,7
<b>Feuchtigkeitsgehalt</b> [wt %]	6,9	3,8	2,1	4,2	3,5	4,3

Die Bestimmung der Staudingerindizes  $[\eta]$  der Methylcellulosen erfolgte mit einem Ubbelohde-Kapillarviskosimeter in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C. Der Staudingerindex  $[\eta]$  ist ein Maß für die Volumenbeanspruchung des Einzelmoleküls in Lösung. Aus den viskosimetrischen Daten wurden die kritischen Polymerkonzentrationen der Viskosimetrie  $c^*_{[\eta]}$  für die einzelnen Methylcellulosen berechnet, die mit den Daten der kombinierten Anlage verglichen werden sollen.

[154] [www.wolff-cellulosics.de](http://www.wolff-cellulosics.de)

[155] DOW Chemical Company, *Leitfaden für die Produktauswahl Methocel – Cellulosederivate für die Lebensmittelindustrie*, Produktinformation

[156] Altunina, L., Kushinov, V., *Flow properties and oil-displacing capacity of gel-forming system based on application in coordinating solvents*, in: *Progress in Mining and Oilfield Chemistry*, **2001**, 3, 67-76

[157] Kirk, R. E., Othmer, D. F., *Encyclopedia of chemical technology*, John Wiley & Sons, New York, **1979**

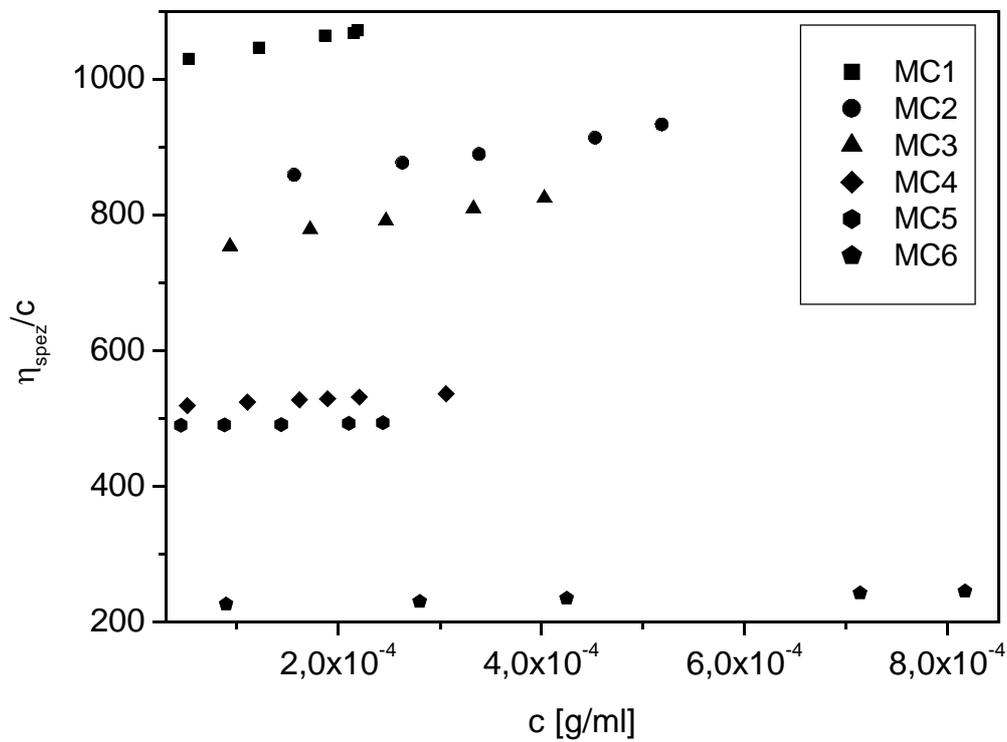


Abbildung 77: Auftragung der viskosimetrischen Daten der sechs Methylcellulosen in einem Huggins-Plot zur Ermittlung der Staudingerindizes  $[\eta]$ .

In Abbildung 77 ist die Auftragung nach Huggins wiedergegeben. Die Werte für den Staudingerindex und der kritischen Polymerkonzentrationen aus der Viskosimetrie sind in Tabelle 28 aufgelistet. Die Staudingerindizes der Methylcellulosen lagen zwischen 1017 und 224  $\text{cm}^3/\text{g}$  und die daraus resultierenden kritischen Polymerkonzentrationen zwischen  $2,46 \cdot 10^{-3}$  und  $1,12 \cdot 10^{-2} \text{ g}/\text{cm}^3$ .

Tabelle 28: Die intrinsischen Viskositäten  $[\eta]$  und die kritischen Polymerkonzentrationen  $c^*_{[\eta]}$  der sechs Methylcellulosen bestimmt in 0,1 M Natriumnitratlösung bei 25°C.

Methylcellulose	MC1	MC2	MC3	MC4	MC5	MC6
$[\eta]$ [ $\text{cm}^3/\text{g}$ ]	1017	825	737	516	489	224
$K_H$	0,23	0,3	0,41	0,28	0,11	0,54
$c^*_{[\eta]}$ [ $\text{g}/\text{cm}^3$ ]	$2,46 \cdot 10^{-3}$	$3,03 \cdot 10^{-3}$	$3,39 \cdot 10^{-3}$	$4,84 \cdot 10^{-3}$	$5,11 \cdot 10^{-3}$	$1,12 \cdot 10^{-2}$

Für die Bestimmung von Struktur-Eigenschafts-Beziehungen ist die Kenntnis der chemischen

Mikrostruktur der Methylcellulosen sehr wichtig. Der durchschnittliche Substitutionsgrad für die Methylgruppen wurde mittels *IGATED*  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie ermittelt. Das direkte Vermessen der Probesubstanz würde aber aufgrund der hohen Viskositätsergiebigkeit zu schlecht aufgelösten Spektren führen. Deshalb wurden alle Methylcellulosen per Ultraschall degradiert und so die Viskositätsergiebigkeit herabgesetzt, wodurch sich die Spektrenauflösung verbesserte. Die Spektren wurden in Deuteriumoxid  $\text{D}_2\text{O}$  mit Trimethylsilylpropionsäure-Natriumsalz *TMSP* als interner Standard vermessen. Für die Zuordnung der Signale wurden die entsprechenden Daten von Methylcellulose in *DMSO* [158] verwendet. Die Zuordnung der chemischen Verschiebungen sind in Abbildung 79 und in Tabelle 29 wiedergegeben.

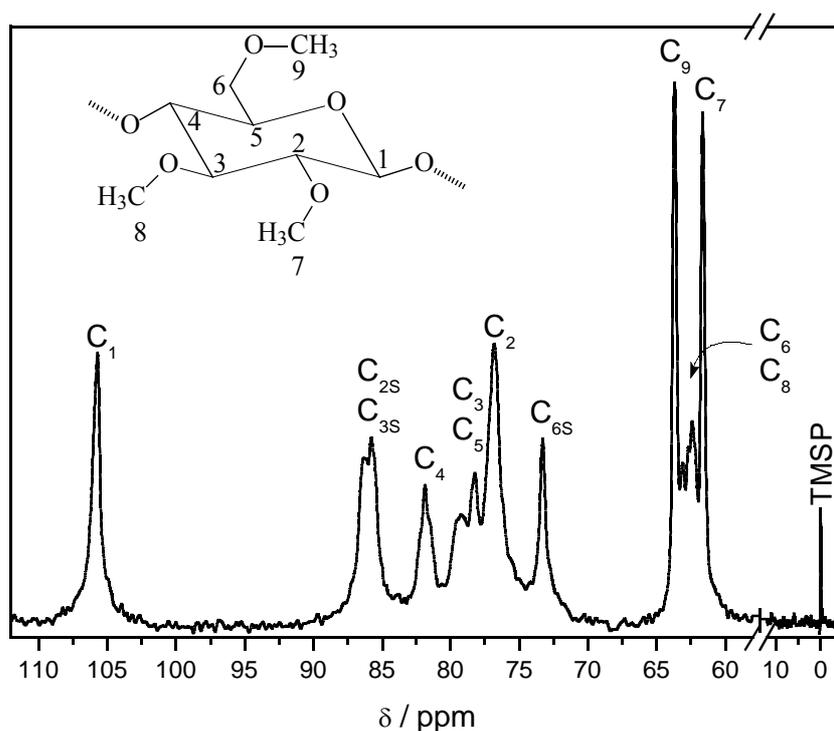


Abbildung 78: Die Zuordnung der chemischen Verschiebung für die Kohlenstoffatome von Methylcellulose in Deuteriumoxid mit *TMSP* als interner Standard bei Raumtemperatur.

[158] Ibbett, R. N., Philp, K., Price, D. M.,  $^{13}\text{C}$  NMR studies of thermal behavior of aqueous solutions of cellulose ethers, in: *Polymer*, **1992**, 33, 4087-4094

Die Ermittlung der durchschnittlichen Substitutionsgrade erfolgte mit Hilfe der inverse-gated-decoupling *IGATED* Methode, die eine quantitative Auswertung der Spektren ermöglicht. Eine komplette regiospezifische Auswertung des Substitutionsgrads konnte nicht durchgeführt werden, da die beiden Signale für die substituierte C<sub>2</sub>- und C<sub>3</sub>-Position aufgrund der ähnlichen chemischen Verschiebung nicht getrennt voneinander vorlagen. Man hätte noch mit der Anpassung von Lorentzlinien (Deconvolution, Auswertungsmethode des Bruker *WIN-NMR* Programms) arbeiten können, worauf aber verzichtet wurde, da sich die Signale stark überschneiden.

*Tabelle 29: Die Zuordnung der chemischen Verschiebung für die Kohlenstoffatome von Methylcellulose in Deuteriumoxid mit TMS<sup>+</sup> als interner Standard bei Raumtemperatur.*

<b>C-Atom</b>	<b>C<sub>1</sub></b>	<b>C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub></b>	<b>C<sub>4</sub></b>	<b>C<sub>6</sub>, C<sub>8</sub></b>	<b>C<sub>2 subs</sub>, C<sub>3 subs</sub></b>	<b>C<sub>6 subs</sub></b>	<b>C<sub>7</sub></b>	<b>C<sub>9</sub></b>
δ [ppm]	105,1	79,3 - 75,2	81,3	62,2 - 62,7	86	72,8	61,3	63,4

Deshalb wurden die partiellen Substitutionsgrade der C<sub>2</sub>- und C<sub>3</sub>-Position ( $x_2+x_3$ ) zusammengefasst. Lediglich der partielle Substitutionsgrad  $x_6$  konnte direkt ausgewertet werden. Der durchschnittliche Substitutionsgrad DS ergab sich dann aus den beiden partiellen Substitutionsgraden zu  $DS = x_6 + (x_2+x_3)$ . Die Berechnung der partiellen Substitutionsgrade erfolgte aus den integralen Flächen der Signale von C<sub>6 subs</sub> und (C<sub>2 subs</sub> + C<sub>3 subs</sub>) im Verhältnis zum anomeren C<sub>1</sub>-Atom.

Die <sup>13</sup>C-NMR-Spektren der sechs ultraschalldegradierten Methylcellulosen sind in Abbildung 79 dargestellt und zeigen alle ähnliche Charakteristika. Die durchschnittlichen Substitutionsgrade variierten zwischen 1,80 und 2,09. Die Methylcellulosen waren vom Substitutionsgrad in einem ähnlichen Bereich, wobei die Methylcellulosen *MC1*, *MC2* und *MC3* fast identische durchschnittliche Substitutionsgrade zwischen 1,80 und 1,82 besaßen. Die Daten für die Substitutionsgrade sind in Tabelle 30 zusammengefasst.

*Tabelle 30: Aufstellung der durchschnittlichen Substitutionsgrade DS und der partiellen Substitutionsgrade für die sechs untersuchten Methylcellulosen.*

<b>Methylcellulose</b>	<b>MC1</b>	<b>MC2</b>	<b>MC3</b>	<b>MC4</b>	<b>MC5</b>	<b>MC6</b>
<i>DS</i>	1,81	1,80	1,82	1,99	2,09	1,90
( $x_2+x_3$ )	1,20	1,18	1,20	1,34	1,40	1,28
$x_6$	0,61	0,62	0,62	0,65	0,69	0,62

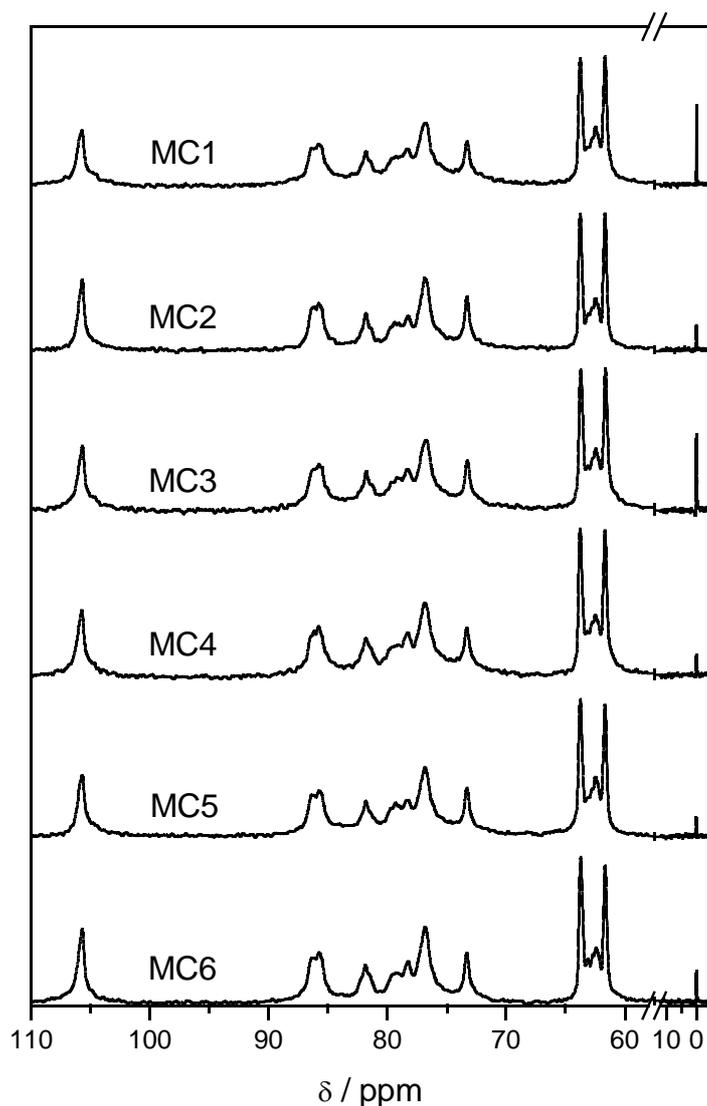


Abbildung 79: Die IGATED  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren der sechs ultraschalldegradierten Methylcellulosen in Deuteriumoxid mit TMS $\text{P}$  als interner Standard bei  $25^\circ\text{C}$ .

Der partielle Substitutionsgrad  $x_6$  lag mit Werten von 0,61 bis 0,69 in einem ähnlichen Bereich. Die Methylcellulosen *MC1*, *MC2*, *MC3* und *MC6* hatten sogar einen übereinstimmenden partiellen Substitutionsgrad  $x_6$ . Nach der Bestimmung der chemischen Strukturparameter wurden die Methylcellulosen bei Raumtemperatur in 0,1 M  $\text{NaNO}_3$ -Lösung mit 200 ppm  $\text{NaN}_3$  gelöst und mit Hilfe der kombinierten Anlage *SEC/MALLS/RI* untersucht. Die Elutionsdiagramme der Methylcellulosen *MC1* bis *MC6* sind in den Abbildungen 80 bis 85 dargestellt. Von den Signalverläufen lassen sich die sechs Proben in zwei Gruppen einteilen. Die Methylcellulosen *MC1*, *MC2* und *MC3* in den Abbildungen 80, 81 und 82 zeigen sowohl für das Lichtstreuungssignal als auch für das Konzentrationssignal einen

monomodalen Verlauf. Die Proben *MC4*, *MC5* und *MC6* in den Abbildungen 83, 84 und 85 zeigen diesen Verlauf nicht. Die Methylcellulose *MC5* in Abbildung 84 zeigt im Lichtstreuungssignal eine Schulter bei ca. 23 ml Elutionsvolumen direkt vor dem Maximum bei 26 ml. Bei den anderen beiden Proben *MC4* und *MC6* in den Abbildungen 83 und 85 liegt die Schulter bzw. ein zweiter, nicht Basislinien getrennter Peak hinter dem Maximum, welches bei beiden bei einem Elutionsvolumen von 23 ml liegt. Bei der Methylcellulose *MC4* haben im Vergleich zur Probe *MC5* die Schulter und das Maximum getauscht mit 23 ml und 26 ml. Die Probe *MC6* zeigt im Lichtstreuungssignal sogar zwei ausgeprägte Maxima im Lichtstreuungssignal bei 23 ml und bei 29 ml. Außerdem ist bei der hochmolekularen Flanke (niedriges Elutionsvolumen) eine kleine Schulter im Konzentrationssignal vorhanden, die bei *MC4* nur sehr schwach ausgeprägt ist. Bei den Methylcellulosen *MC4* bis *MC6* sind hochmolekulare Anteile in sehr geringen Konzentrationen vorhanden. Dies kann dadurch zustande kommen, dass die Proben durch Degradation hergestellt wurden und die hochmolekularen Anteile vom eingesetzten Zellstoff stammen.

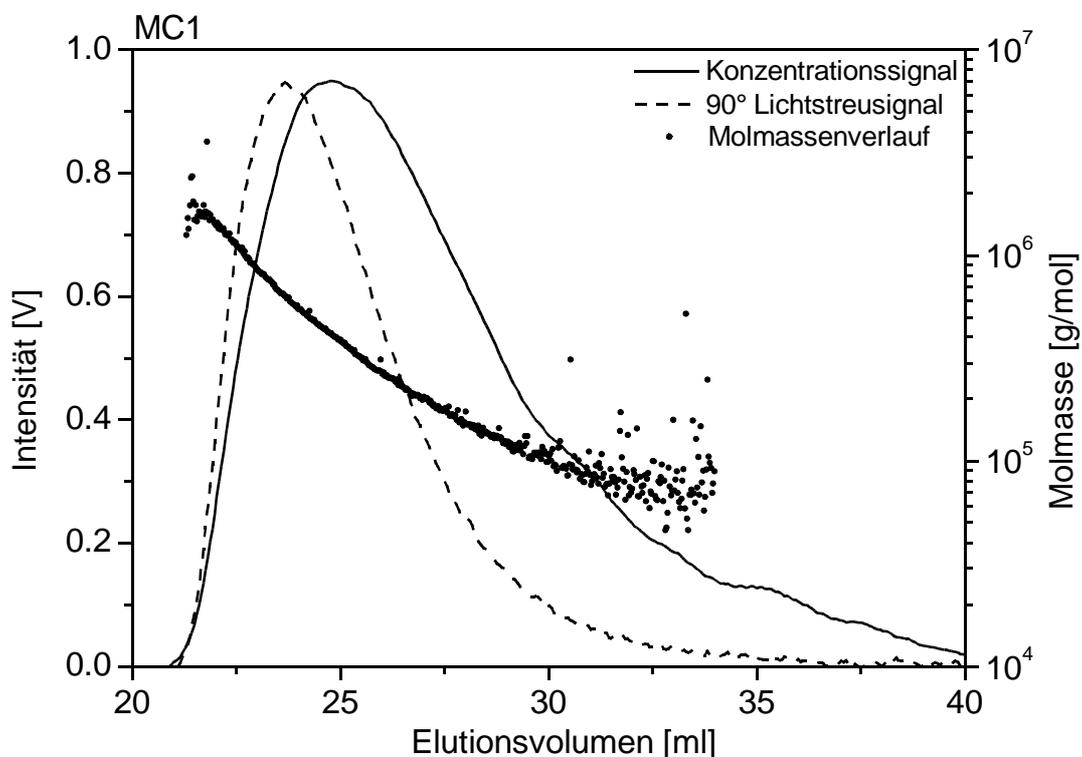


Abbildung 80: Elutionsdiagramm der Methylcellulose *MC1* bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

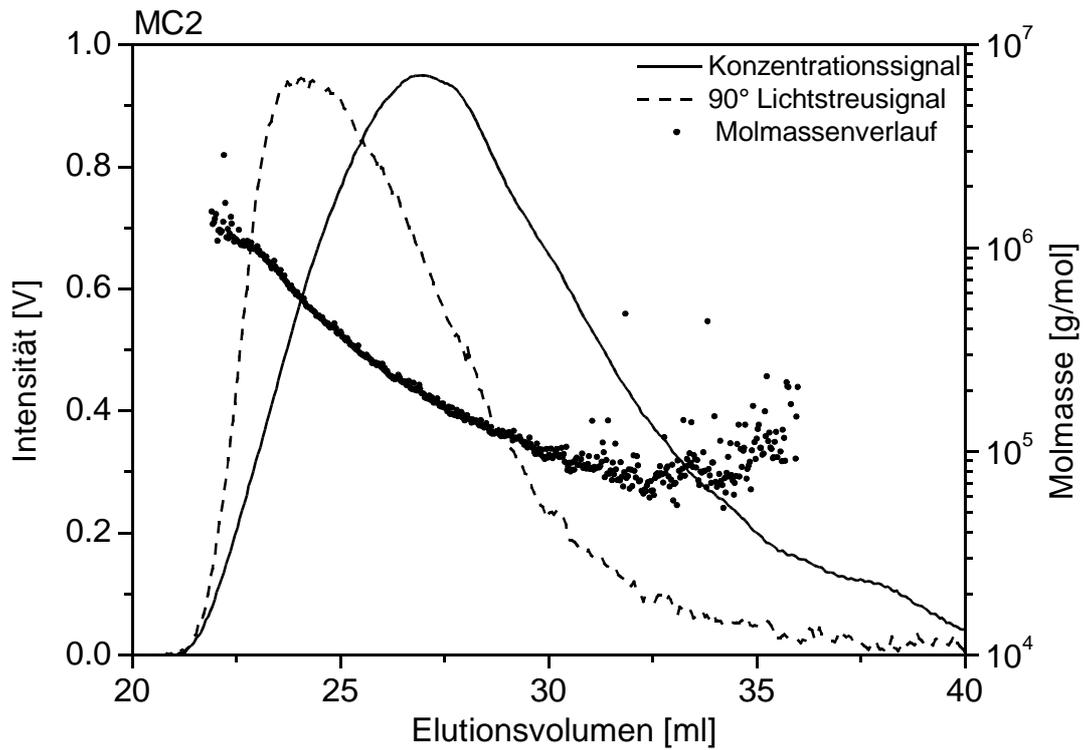


Abbildung 81: Elutionsdiagramm der Methylcellulose MC2 bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

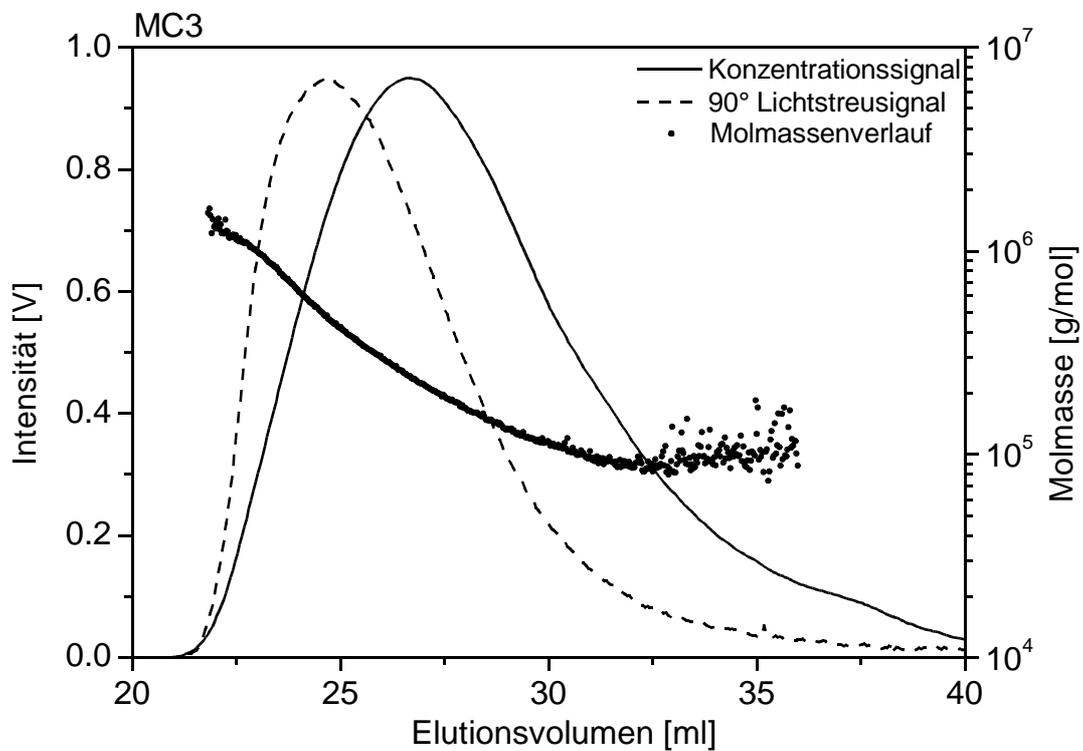


Abbildung 82: Elutionsdiagramm der Methylcellulose MC3 bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

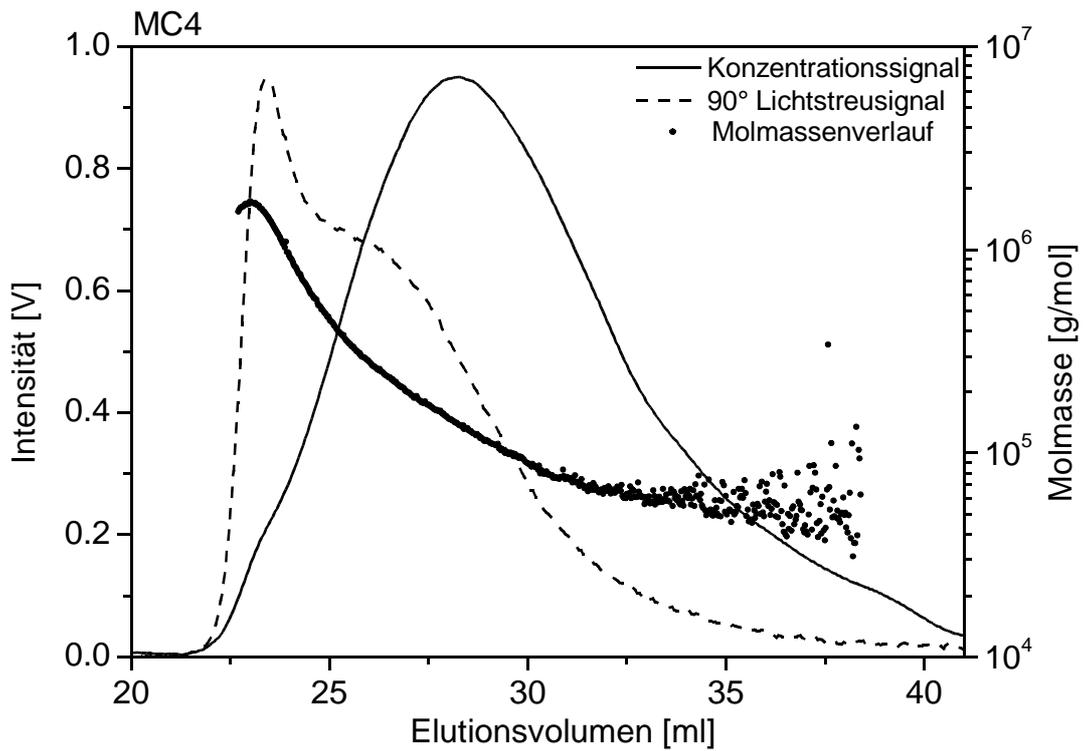


Abbildung 83: Elutionsdiagramm der Methylcellulose MC4 bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

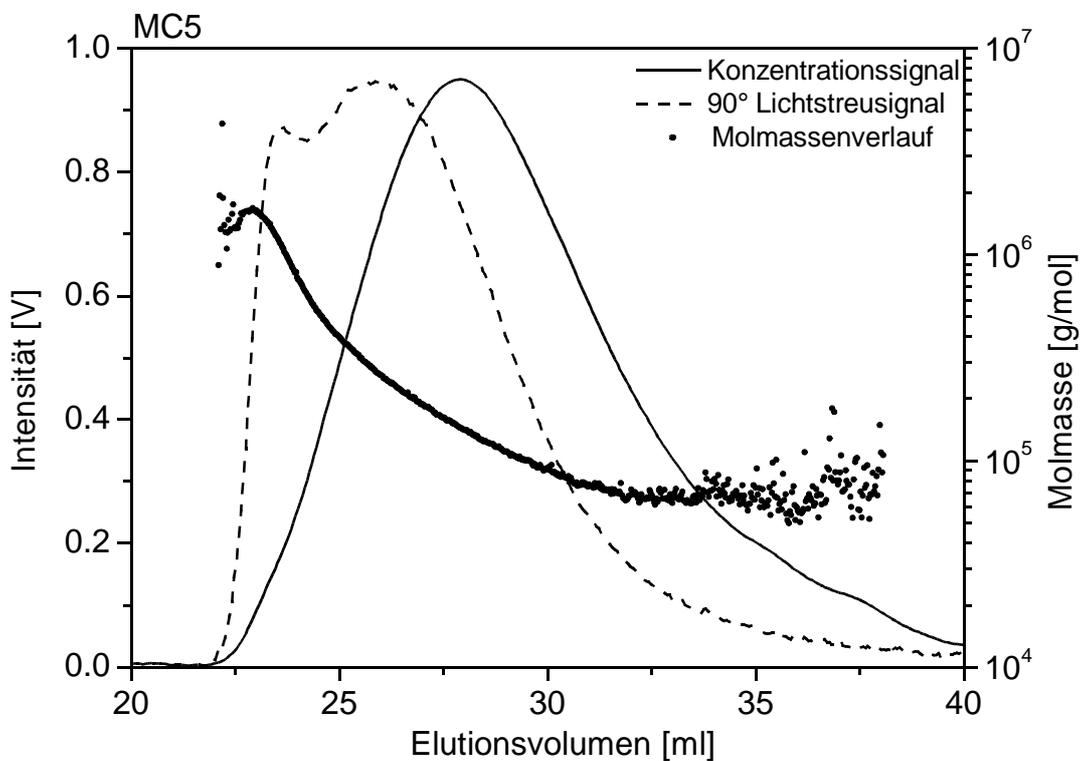


Abbildung 84: Elutionsdiagramm der Methylcellulose MC5 bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

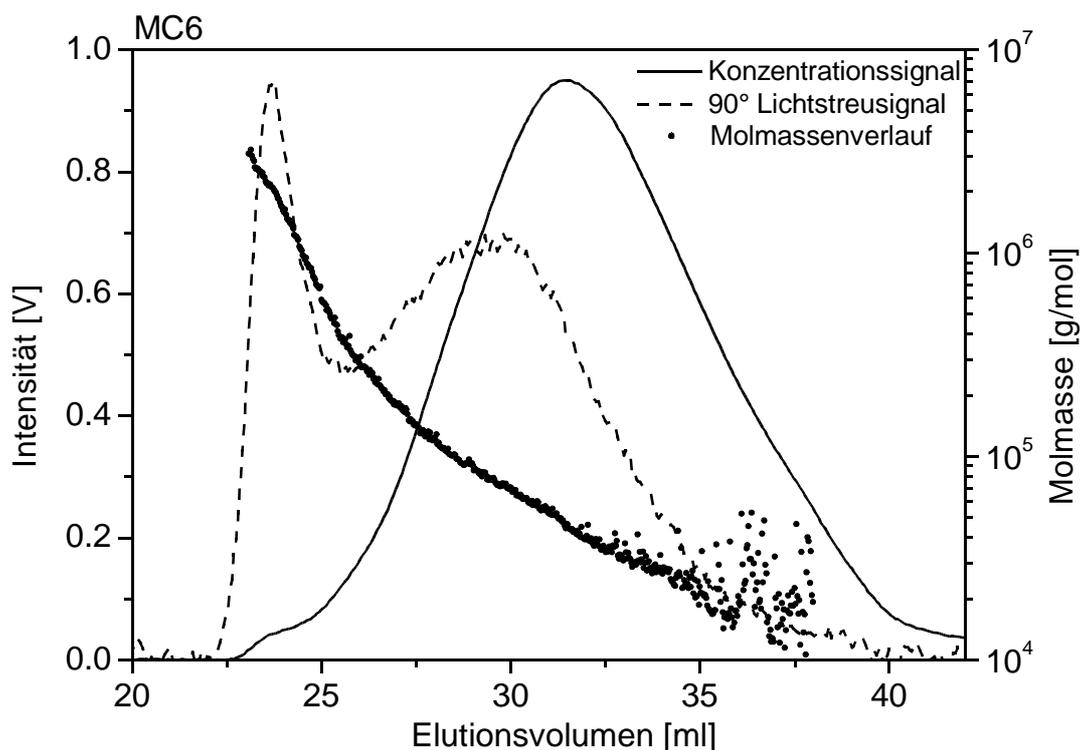


Abbildung 85: Elutionsdiagramm der Methylcellulose MC6 bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

Die Methylcellulose mit der höchsten gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  war die Probe MC1 mit 351.000 g/mol, wohingegen die Probe MC6 mit 65.000 g/mol die geringste gewichtsmittlere Molmasse im Probenfeld aufwies. Die ermittelten Daten sind in der Tabelle 31 aufgelistet. In Abbildung 86 sind alle sechs Methylcellulosen mit ihren differenziellen Molmassenverteilungen aufgetragen.

Alle Methylcellulosen zeigen Anteile bis in den hochmolekularen Bereich um  $1 \cdot 10^6$  g/mol, während der niedermolekulare Bereich für die Proben MC1, MC2 und MC3 vor 20.000 g/mol aufhört, sind bei den Proben MC4, MC5 und MC6 auch noch Anteile unterhalb von 10.000 g/mol vorhanden. Das Maximum entspricht der Molmasse mit dem höchsten Anteil und spiegelt auch die Reihenfolge bezüglich der ermittelten gewichtsmittleren Molmasse in der Tabelle 31 wieder.

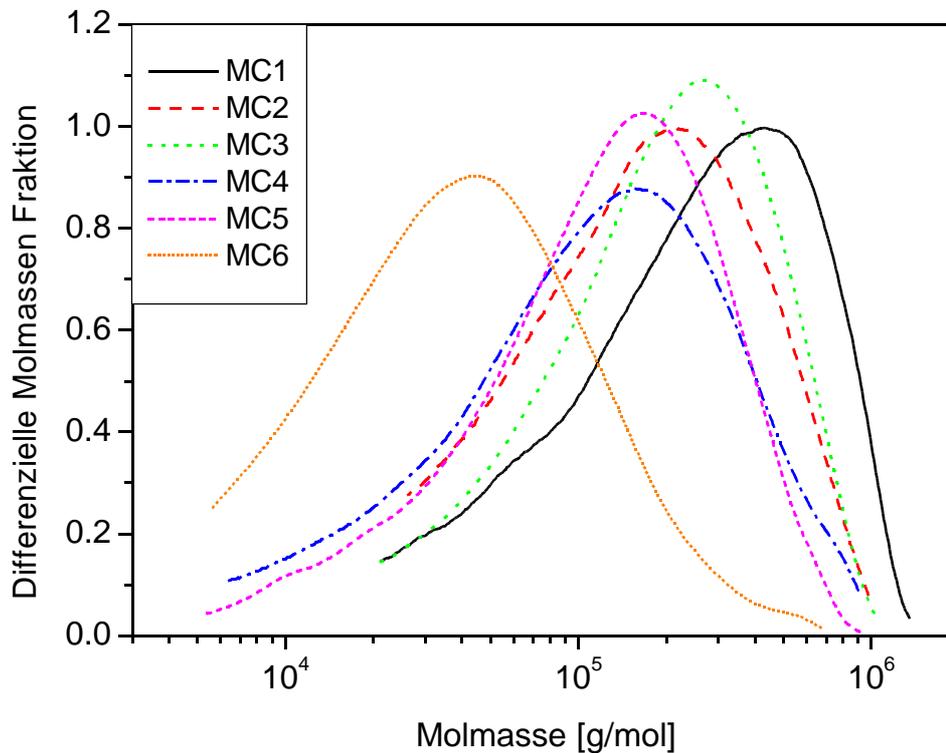


Abbildung 86: Differenzieller Molmassenverlauf der sechs Methylcellulosen bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid..

Tabelle 31: Ergebnisse für die sechs Methylcellulosen aus den SEC/MALLS/RI-Messungen.

<i>Methylcellulose</i>	<i>MC1</i>	<i>MC2</i>	<i>MC3</i>	<i>MC4</i>	<i>MC5</i>	<i>MC6</i>
$M_w$ [g/mol]	351.000	231.000	260.000	183.000	166.000	65.000
$M_w/M_n$	2,2	4,0	2,0	3,9	2,7	2,4
$R_{Gz}$ [nm]	78	61	63	47	48	36
$WF$ [wt %]	83	84	89	90	85	94
$c^*_{LS}$ [g/cm <sup>3</sup> ]	$9,68 \cdot 10^{-5}$	$1,33 \cdot 10^{-4}$	$1,36 \cdot 10^{-4}$	$2,3 \cdot 10^{-4}$	$1,96 \cdot 10^{-4}$	$1,83 \cdot 10^{-4}$
$c^*_{LS}$ [wt %]	0,01	0,013	0,014	0,023	0,02	0,018

Für die Methylcellulosen *MC1* bis *MC5* liegt der Faktor zwischen der kritischen Polymerkonzentration der Lichtstreuung  $c^*_{LS}$  und der Viskosimetrie  $c^*_{[\eta]}$  um 25 (zwischen 21 und 26), nur die Methylcellulose *MC6* fällt hier mit einem Faktor von ca. 60 weit heraus. Aus den Daten der kombinierten Anlage und der Viskosimetrie wurden zwei Struktur-

Eigenschafts-Beziehungen ermittelt, die in der Tabelle 32 wiedergegeben sind.

*Tabelle 32: Struktur-Eigenschafts-Beziehungen der Methylcellulose.*

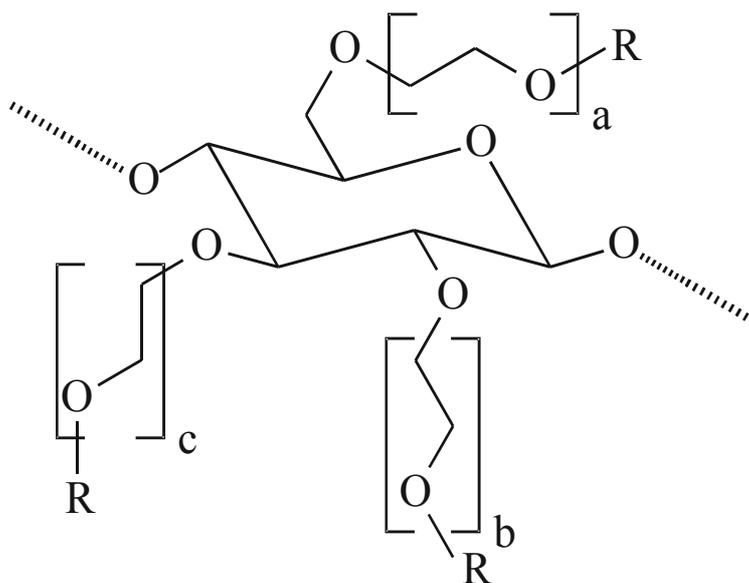
<i>R<sub>G</sub>-M Beziehung</i>		<i>[η]-M-Beziehung</i>		<i>Weitere Angaben</i>			
<i>K<sub>RG</sub></i>	<i>v</i>	<i>K[η]</i>	<i>a</i>	<i>Lösungsmittel</i>	<i>Methode</i>	<i>Quelle</i>	<i>DS</i>
2,34 * 10 <sup>-1</sup>	0,45	8,82 * 10 <sup>-3</sup>	0,91	0,1 M NaNO <sub>3</sub>	SEC	Diese Arbeit	1,8-2,1
4,40 * 10 <sup>-2</sup>	0,55	8,00 * 10 <sup>-2</sup>	0,92	0,1 M NaNO <sub>3</sub>	SEC	Bartsch [159]	1,8

Der Aufweitungsparameter  $a$  der Mark-Houwling-Beziehung deutet auf ein durchspültes Knäuel hin und stimmt sehr gut mit dem Wert nach Bartsch überein. Der Aufweitungsparameter  $v$  der  $R_G$ -M-Beziehung zeigt den Wert einer kompakten Struktur und stimmt nicht mit dem Wert nach Bartsch überein, der auch hier eine aufgeweitete Struktur ergibt. Die Struktur-Eigenschafts-Beziehungen von Bartsch wurden aus einer homologen Molmassenreihe, die durch Ultraschalldegradation aus einer Probe hergestellt wurde, ermittelt. Diese Struktur-Eigenschafts-Beziehung wurde aus verschiedenen Methylcellulosen mit unterschiedlichen Verteilungsbreiten und Substitutionsgraden erstellt, was diese Abweichung erklärt.

[159] Bartsch, S., *Charakterisierung kolloidaler Systeme mittels Größenausschlusschromatographie, Querflußfraktionierung und Lichtstreuung*, Dissertation Universität Hamburg, 1998

#### 4.6 Hydrophob modifizierte Hydroxyethylcellulose hmHEC

Bei der hydrophob modifizierten Hydroxyethylcellulose *hmHEC* wird zusätzlich zu den Hydroxyethylsubstituenten ein hydrophober Alkylsubstituent eingeführt (siehe Abbildung 87). Zur Herstellung der hydrophob modifizierten Hydroxyethylcellulose können unterschiedliche Herstellungsverfahren angewendet werden, wie die Substitution eines Alkylhalogenids, die William'sche Ethersynthese oder die Umsetzung mit Epoxiden [160]



R = H, Alkylkette

Abbildung 87: Struktur der hydrophob modifizierten Hydroxyethylcellulose.

Die hydrophob modifizierten Hydroxyethylcellulosen gehören zur Gruppe der technisch sehr bedeutenden Assoziativverdicker für wässrige Systeme. Die hydrophobe Modifizierung kann mit C<sub>8</sub> bis C<sub>24</sub>-Alkylsubstituenten erfolgen, wobei längere Alkylsubstituenten zu einer sehr schlechten Löslichkeit führen und kürzere nicht die erwünschten Eigenschaften zeigen.

Assoziativverdicker können nicht nur eine Verdickung der Wasserphase ermöglichen, sondern auch systemverdickende Eigenschaften durch Ausbildung von Mizellen erreichen, wofür die hydrophobe Alkylkette verantwortlich ist. Die hydrophob modifizierten Hydroxyethyl-

[160] Zhang, L.-M., *Cellulosics associative thickeners*, *Carbohydrate Polymers*, **2001**, 45, 1-10

cellulosen werden in der Farb-, Papier- [161] und Kosmetikindustrie [162] verwendet.

Es wurden 14 Proben hydrophob modifizierter Hydroxyethylcellulosen von der Firma Beiersdorf zur Verfügung gestellt. Diese sollten zur Herstellung von kosmetischen Emulsionen verwendet werden. Die Proben unterschieden sich in der Länge der hydrophoben Alkylkette von 8 bis 22 (C-Atom Anzahl), wobei auch der hydrophobe Anteil von 0,10 bis 3,29 Gewichtsprozent variierte. Die Molmassen lagen laut Herstellerangaben zwischen 130.000 g/mol und 1.000.000 g/mol und bei einigen Proben war der molare Substitutionsgrad bezüglich Hydroxyalkylierung angegeben. Die Herstellerangaben sind in der Tabelle 33 zusammengefasst.

Tabelle 33: Herstellerangaben zu den hydrophob modifizierten Hydroxyethylcellulosen.

<i>Probe</i>	<i>Hydrophobe Alkylkettenlänge [C]</i>	<i>Hydrophobierungs- grad [Gw %]</i>	<i>MS Hydroxyethyl</i>	<i>Mw [Dalton]</i>
<i>hmHEC1</i>	8	1,22	k.A.	300.000
<i>hmHEC2</i>	8	1,87	k.A.	300.000
<i>hmHEC3</i>	8	3,29	3,70	600.000
<i>hmHEC4</i>	12	0,8	k.A.	300.000
<i>hmHEC5</i>	12	1,00	k.A.	300.000
<i>hmHEC6</i>	14	0,84	k.A.	300.000
<i>hmHEC7</i>	16	0,5	k.A.	400.000
<i>hmHEC8</i>	16	0,55	k.A.	700.000
<i>hmHEC9</i>	18	0,72	3,91	300.000
<i>hmHEC10</i>	22	0,10	3,32	600.000
<i>hmHEC11</i>	22	0,21	3,13	600.000
<i>hmHEC12</i>	22	0,24	4,05	300.000
<i>hmHEC13</i>	22	0,26	3,34	130.000
<i>hmHEC14</i>	22	0,64	k.A.	1.000.000

Die Trockengehalte der hydrophob modifizierten Hydroxyethylcellulosen wurden mittels Gefriertrocknung bis zur Massenkonstanz gemessen. Die Trocken- bzw. Feuchtigkeitsgehalte

[161] Majewicz, T. G., Young, T.-S., *Hydrophobically modified cellulose thickeners for paper coating*, **1991**, U.S. Paten 4 994 112

[162] Chan, A. N., Clayton, A. B., Modi, J. J., *Low VOC hair sprays containing cellulose ethers*, **1998**, U.S. Patent 5 804 166

sind in der Tabelle 34 aufgeführt. Die Feuchtigkeitsgehalte variierten zwischen 6,9 und 14,1 %, wobei nur zwei Substanzen (*hmHEC3* und *hmHEC11*) mehr als 10 % Feuchtigkeitsgehalt aufwiesen.

*Tabelle 34: Trockengehalte der hydrophob modifizierten Hydroxyethylcellulose.*

<b>Probe</b>	<b>Trockengehalt [wt %]</b>	<b>Feuchtigkeitsgehalt [wt %]</b>
hmHEC1	90,8	9,2
hmHEC2	90,5	9,5
hmHEC3	85,9	14,1
hmHEC4	91,1	8,9
hmHEC5	92,1	7,9
hmHEC6	91,2	8,8
hmHEC7	93,1	6,9
hmHEC8	92,7	7,3
hmHEC9	92,5	7,5
hmHEC10	90,9	9,1
hmHEC11	89,4	10,6
hmHEC12	91,9	8,1
hmHEC13	92,1	7,9
hmHEC14	91,6	8,4

Zur Untersuchung der viskosimetrischen Daten und der chemischen Mikrostruktur wurde nur ein mit dem Projektpartner ausgewählter Teil der hydrophob modifizierten Hydroxyethylcellulosen untersucht. Für die viskosimetrischen Messungen wurde von jeder Probe eine ca. 0,1 % Stammlösung angesetzt, aus der eine Verdünnungsreihe mit insgesamt 10 Konzentrationen hergestellt wurde. Nach dem Lösen der Proben erfolgte eine Filtration der Stammlösung über einen 11 µm-Membranfilter (Millipore, Deutschland). Die viskosimetrischen Daten der hydrophob modifizierten Hydroxyethylcellulosen sind in der Abbildung 88 aufgetragen und die daraus extrapolierten Staudingerindizes in der Tabelle 35 aufgeführt. Es waren nicht alle Proben gut löslich, so zeigte die Probe *hmHEC14*, die laut Herstellerangabe die größte Molmasse besitzen sollte, den kleinsten Staudingerindex. Bei der Probenvorbereitung musste diese Probe als Einzige bei Überdruck über drei verschiedene Filtergrößen, 60 µm, 20 µm und 11 µm, filtriert werden. Auf dem Filter blieben ungelöste

Bestandteile zurück. Das Auftreten von ungelösten Bestandteilen, so genannte Fischaugen, in der Lösung zeigten noch weitere Proben. Zu diesen Proben gehörten die hydrophob modifizierten Hydroxyethylcellulosen *hmHEC7*, *hmHEC9*, *hmHEC11* und *hmHEC14*, die alle Filterrückstände aufwiesen. Dabei handelt es sich um Proben, die relativ lange hydrophobe Seitenketten von 16 bis 22 besitzen und eine Molmasse von über 300.000 g/mol haben. Die Probe *hmHEC14* zeigt mit einer Kombination aus langer hydrophober Seitenkette, mit relativ hohen hydrophoben Anteil und hoher Molmasse die schlechteste Löslichkeit. Somit ist bei der Löslichkeit eine Tendenz durch die Seitenkettenlänge und die Molmasse abzusehen.

Bei diesen Proben wurden nur die löslichen Bestandteile charakterisiert. Bei den übrigen Proben blieb nur ein ganz leichter Filterbelag zurück. Alle Proben zeigten somit nur eine ausreichende Löslichkeit. Die Staudingerindizes lagen in einem Bereich von 293 bis 883 cm<sup>3</sup>/g und sind in Tabelle 35 aufgeführt.

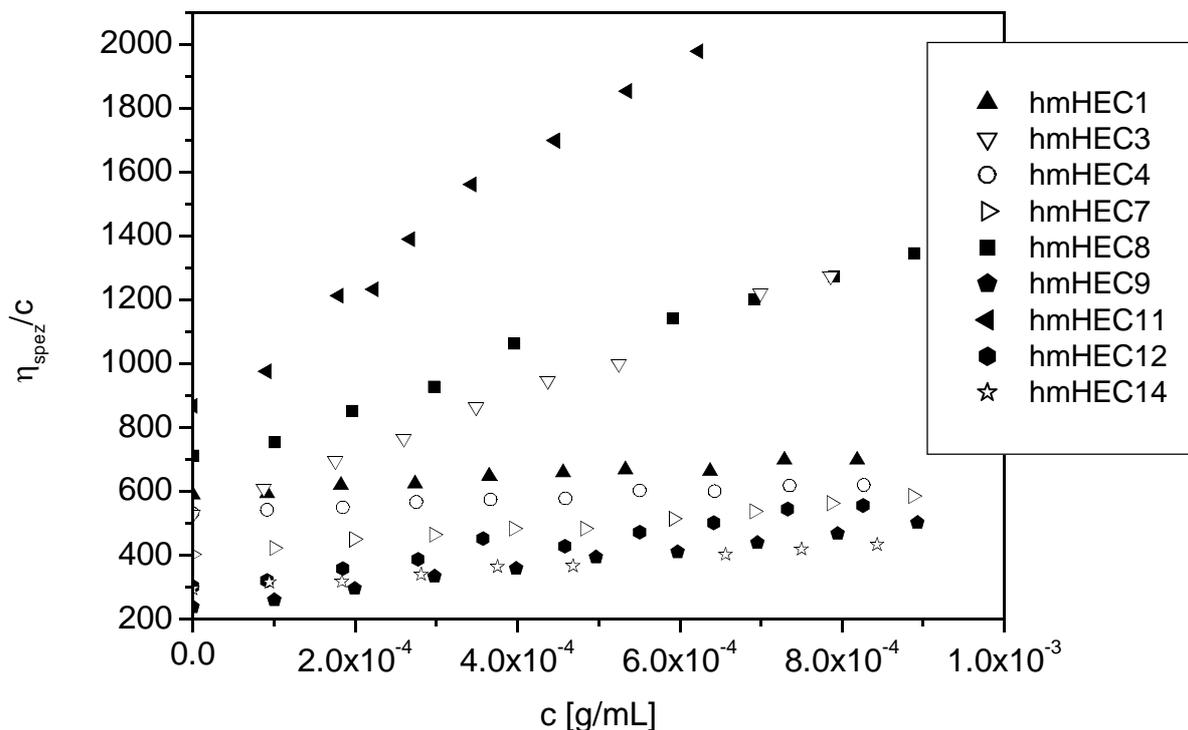


Abbildung 88: Huggins-Plot der viskosimetrischen Daten von neun hydrophob modifizierten Hydroxyethylcellulosen zur Bestimmung der Staudingerindizes bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

Tabelle 35: Die viskosimetrischen Daten der hydrophob modifizierten Hydroxyethylcellulosen bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

<b>Probe</b>	<b><math>[\eta]</math> [cm<sup>3</sup>/g]</b>	<b><math>K_H[\eta]^2</math></b>	<b><math>c^*_{[\eta]}</math> [g/cm<sup>3</sup>]</b>
<i>hmHEC1</i>	536	114677	4,66 * 10 <sup>-3</sup>
<i>hmHEC3</i>	528	927945	4,73 * 10 <sup>-3</sup>
<i>hmHEC4</i>	485	92378	5,15 * 10 <sup>-3</sup>
<i>hmHEC6</i>	402	198182	6,21 * 10 <sup>-3</sup>
<i>hmHEC7</i>	401	550452	6,23 * 10 <sup>-3</sup>
<i>hmHEC8</i>	712	718977	3,51 * 10 <sup>-3</sup>
<i>hmHEC9</i>	293	292655	10,46 * 10 <sup>-3</sup>
<i>hmHEC11</i>	883	1546223	2,88 * 10 <sup>-3</sup>
<i>hmHEC12</i>	302	316995	8,27 * 10 <sup>-3</sup>
<i>hmHEC14</i>	295	169056	8,47 * 10 <sup>-3</sup>

Die Untersuchung der chemischen Mikrostruktur erfolgte mit der <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie. Der durchschnittliche Substitutionsgrad der Alkylketten sollte bestimmt werden. Es wurden alle in Tabelle 35 aufgeführten hydrophob modifizierten Hydroxyethylcellulosen für die NMR-Messung 1,5 Stunden durch Ultraschall degradiert. Durch den Ultraschallkopf kann es zum Eintrag von feinen Titanpartikeln in die Polymerlösung kommen, die die <sup>1</sup>H-NMR-Messungen negativ beeinflussen. Deshalb müssen diese durch Zentrifugieren und anschließender Filtration abgetrennt werden. Die Degradation erfolgte in destilliertem Wasser, weshalb die degradierten Proben im Anschluss gefriergetrocknet wurden. Die Messungen wurden dann in D<sub>2</sub>O mit dem internen Standard Trimethylsilyl-propionsäure-d<sub>4</sub>-Natriumsalz *TMSP* durchgeführt. Als Referenz zur Bestimmung des *DS* diente das anomere C-Atom bei einer chemischen Verschiebung von  $\delta = 4,54$ . Die Zuordnung der chemischen Verschiebungen sind in der Tabelle 36 aufgeführt.

Tabelle 36: Zuordnung der chemischen Verschiebungen zu den verschiedenen Gruppen bei hydrophob modifizierten Hydroxyethylcellulosen in D<sub>2</sub>O mit *TMSP* als internen Standard.

	<b>Anomere C-Atom</b>	<b>Hydroxyethylkette</b>	<b>Alkankette</b>			<b>Methingruppe</b>	<b>Polymer</b>
$\delta$	4,53 bis	3,23 bis 3,25	2,22 bis	1,31 bis	0,90 bis	1,54 bis 1,58	3,30 bis
[ppm]	4,55		2,23	1,32	0,91		4,30

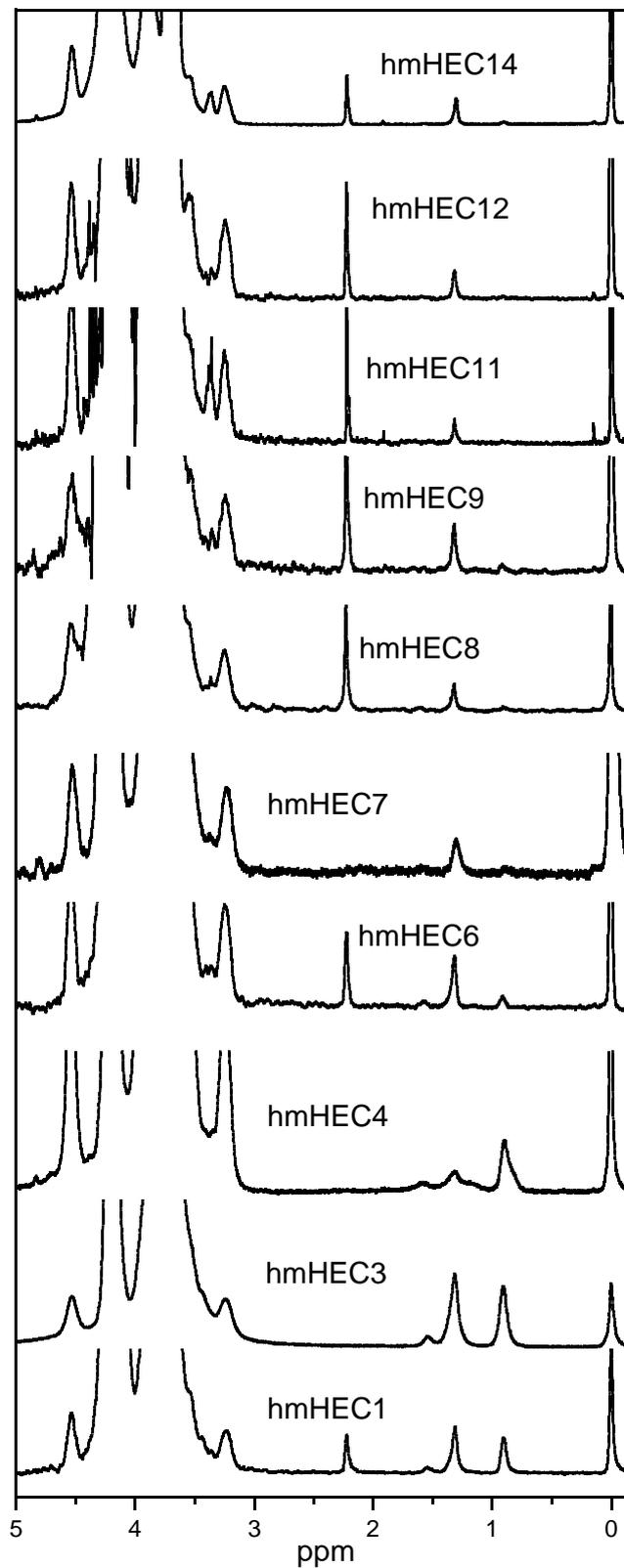


Abbildung 89: <sup>1</sup>H-NMR-Spektren von 10 hydrophob modifizierten Hydroxyethylcellulosen.

Die aus den Spektren berechneten durchschnittlichen Substitutionsgrade, bezogen auf die Alkylketten, sind in der Tabelle 37 wiedergegeben. Einige Proben zeigten das Signal eines Methinprotons bei einer chemischen Verschiebung von  $\delta = 1,53$  ppm, wodurch auf eine Verzweigung in der hydrophoben Modifizierung geschlossen werden konnte. Bei diesen Proben sind in der Tabelle 37 die DS-Werte mit einem v gekennzeichnet.

*Tabelle 37: Die durchschnittlichen Substitutionsgrade bezogen auf die Alkylketten für die <sup>1</sup>H-NMR-spektroskopisch untersuchten hydrophob modifizierten Hydroxyethylcellulosen. Die Angabe v bedeutet verzweigt.*

<i>Probe</i>	<i>Alkylkettenlänge [Anzahl der C-Atome]</i>	<i>DS</i>
<i>hmHEC1</i>	8	0,04 v
<i>hmHEC3</i>	8	0,1 v
<i>hmHEC4</i>	12	0,02
<i>hmHEC6</i>	14	0,01 v
<i>hmHEC7</i>	16	0,07
<i>hmHEC8</i>	16	0,008
<i>hmHEC9</i>	18	0,01
<i>hmHEC11</i>	22	<0,001
<i>hmHEC12</i>	22	0,002
<i>hmHEC14</i>	22	0,003

Zur Bestimmung der molekularen Parameter, wie der Molmasse, die Teilchengröße und deren Verteilungen, wurden die hydrophob modifizierten Hydroxyethylcellulosen mittels kombinierter Anlage SEC/MALLS/RI charakterisiert. Als Lösungs- und Elutionsmittel kam eine 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid zum Einsatz.

Ein Problem stellte wiederum die Löslichkeit der Proben dar. Sehr gute Wiederfindungsraten wiesen nur die beiden Proben *hmHEC1* und *hmHEC4* auf. Die Proben *hmHEC2*, *hmHEC6* und *hmHEC7* zeigen eine Wiederfindungsrate von über 50 % auf, der Rest der Proben liegt darunter und sind durch diese Messwerte nur unzureichend charakterisiert. Die Substanz mit der niedrigsten Wiederfindungsrate ist die Probe *hmHEC14*, diese fiel auch durch ihre Problematik bei der Viskosimetrie mit relativ vielen ungelösten Bestandteilen auf. Zusätzlich zeigten diese Proben bei der Messung in der kombinierten Anlage eine Säulengegendruck-

erhöhung, die aufgrund von verbleibenden Polymer in der Säule entsteht. Diese konnte nur durch eine anschließende Reinigungsspülung in umgekehrter Richtung mit verschiedenen Spüllösungen entfernt werden.

Tabelle 38: Messdaten der kombinierten Anlage SEC/MALLS/RI für die hydrophob modifizierten Hydroxyethylcellulosen.

<i>Probe</i>	$M_w$ [g/mol]	$M_w/M_n$	$R_{Gz}$ [nm]	WF [wt %]	$c^*_{LS}$ [g/cm <sup>3</sup> ]
<i>hmHEC1</i>	411.000	2,2	64	96	2,1 * 10 <sup>-4</sup>
<i>hmHEC2</i>	334.000	1,5	51	56	3,3 * 10 <sup>-4</sup>
<i>hmHEC3</i>	668.000	1,6	78	31	1,8 * 10 <sup>-4</sup>
<i>hmHEC4</i>	339.000	2,3	61	90	2,0 * 10 <sup>-4</sup>
<i>hmHEC5</i>	178.000	1,7	43	48	2,9 * 10 <sup>-4</sup>
<i>hmHEC6</i>	230.000	1,6	47	64	2,9 * 10 <sup>-4</sup>
<i>hmHEC7</i>	264.000	1,9	56	51	1,9 * 10 <sup>-4</sup>
<i>hmHEC8</i>	266.000	1,8	62	33	1,5 * 10 <sup>-4</sup>
<i>hmHEC9</i>	129.000	1,4	72	15	0,5 * 10 <sup>-4</sup>
<i>hmHEC10</i>	1.326.000	1,1	128	41	0,8 * 10 <sup>-4</sup>
<i>hmHEC11</i>	446.000	1,4	69	28	1,8 * 10 <sup>-4</sup>
<i>hmHEC12</i>	145.000	1,9	52	41	1,4 * 10 <sup>-4</sup>
<i>hmHEC13</i>	235.000	1,2	49	38	2,6 * 10 <sup>-4</sup>
<i>hmHEC14</i>	350.000	1,3	74	13	1,1 * 10 <sup>-4</sup>

Es wurden nur die Elutionsdiagramme der hydrophob modifizierten Hydroxyethylcellulosen *hmHEC1*, *hmHEC2*, *hmHEC4*, *hmHEC6* und *hmHEC7* in den Abbildungen 90 bis 94 auf den Seiten 140 bis 142 abgebildet, da diese Proben eine Wiederfindungsrate von über 50 % zeigten. Es konnten nur zwei Proben gut charakterisiert werden und zwar die Substanzen *hmHEC1* und *hmHEC4*. Bei den restlichen drei Proben *hmHEC2*, *hmHEC6* und *hmHEC7* konnten nur die wasserlöslichen Bestandteile charakterisiert, was zu berücksichtigen ist. Das Elutionsdiagramm der Probe *hmHEC1* ist in der Abbildung 90 aufgeführt. Neben dem 90°-Lichtstreuungssignal (---) und dem Konzentrationssignal (—) ist auch der Molmassenverlauf (•) über das Elutionsvolumen wiedergegeben. Beide Signale zeigen einen monomodalen Verlauf mit einem Maximum bei 24 ml für das Lichtstreuungssignal und bei 26 ml für das Konzentrationssignal. Das Konzentrationssignal hat bei 37,5 ml Elutionsvolumen eine Schulter. Die gewichtsmittlere Molmasse wurde zu 411.000 g/mol und

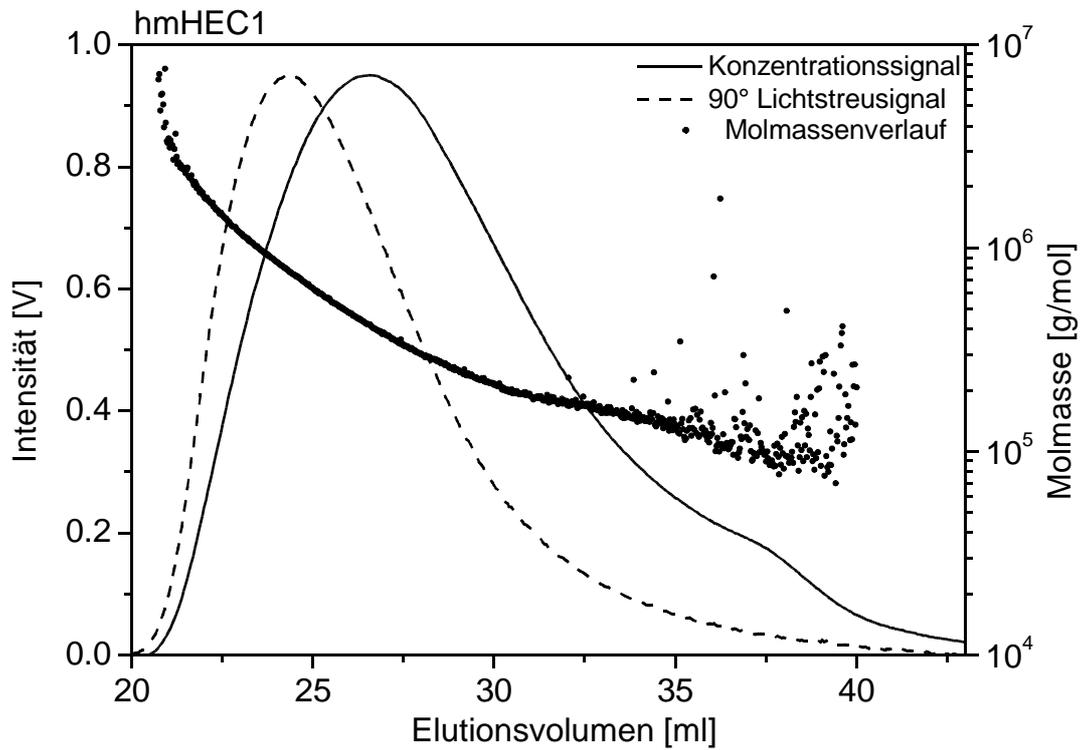


Abbildung 90: Elutionsdiagramm der Probe hmHEC1 bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid..

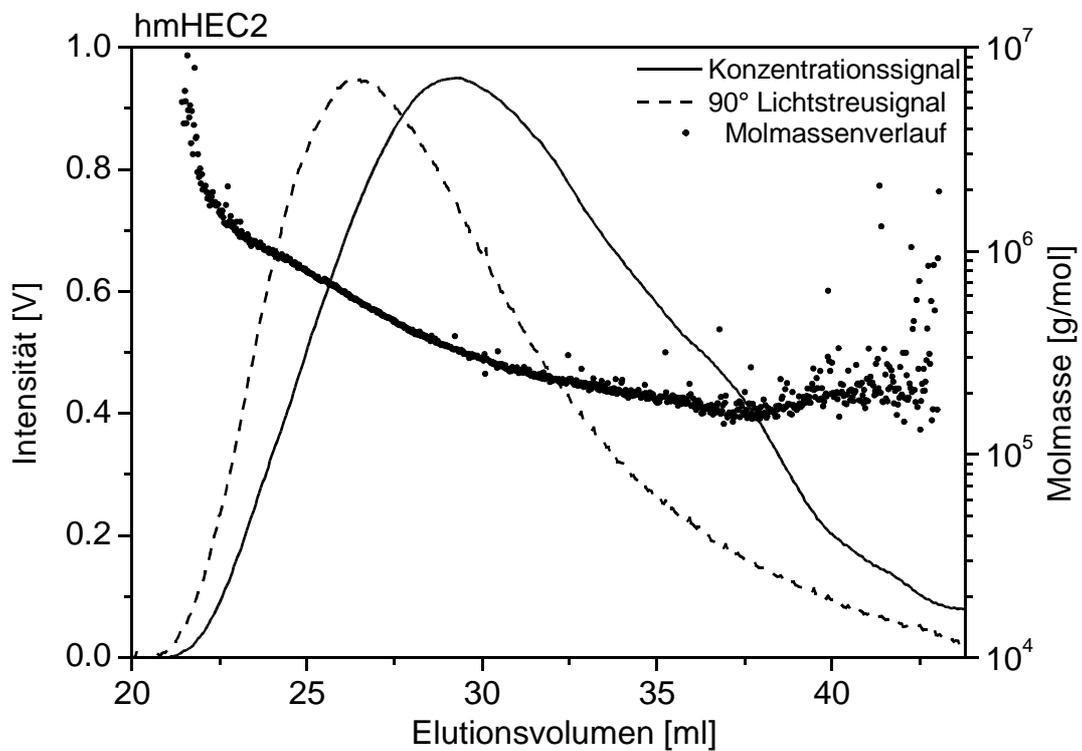


Abbildung 91: Elutionsdiagramm der Substanz hmHEC2 bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

der Gyrationradius mit 64 nm bestimmt. Diese Probe hatte mit 96 % die beste Wiederfindungsrate. Im Vergleich der Molmasse, die mittels kombinierter Anlage *SEC/MALLS/RI* zu 411.000 g/mol bestimmt wurde, zu der Herstellerangabe von 300.000 g/mol, zeigt eine deutlich höhere Molmasse. Bei der Probe *hmHEC2*, deren Elutionsdiagramm in der Abbildung 91 wiedergegeben ist, zeigt sich trotz der unzureichenden Wiederfindungsrate von 56 % eine gute Übereinstimmung zwischen der Herstellerangabe mit 300.000 g/mol und den Messdaten der kombinierten Anlage mit 334.000 g/mol für die löslichen Bestandteile. Beide Signale zeigen auch hier einen monomodalen Verlauf mit einer schwach ausgeprägten Schulter im Konzentrationssignal. Die Maxima der beiden Signale sind im Vergleich zum Elutionsdiagramm der Probe *hmHEC1* bei höheren Elutionsvolumen.

Die hydrophob modifizierte Hydroxyethylcellulose *hmHEC4* ist mit 90 % die zweite Probe mit einer guten Wiederfindungsrate. Das Elutionsdiagramm in der Abbildung 92 zeigt ähnlich der Proben *hmHEC1* und *hmHEC2* für beide Signale einen monomodalen Verlauf mit einer kleinen Schulter im Konzentrationssignal bei hohem Elutionsvolumen. Die mittels kombinierter Anlage gemessene Molmasse (339.000 g/mol) stimmt gut mit den Herstellerangaben (300.000 g/mol) überein.

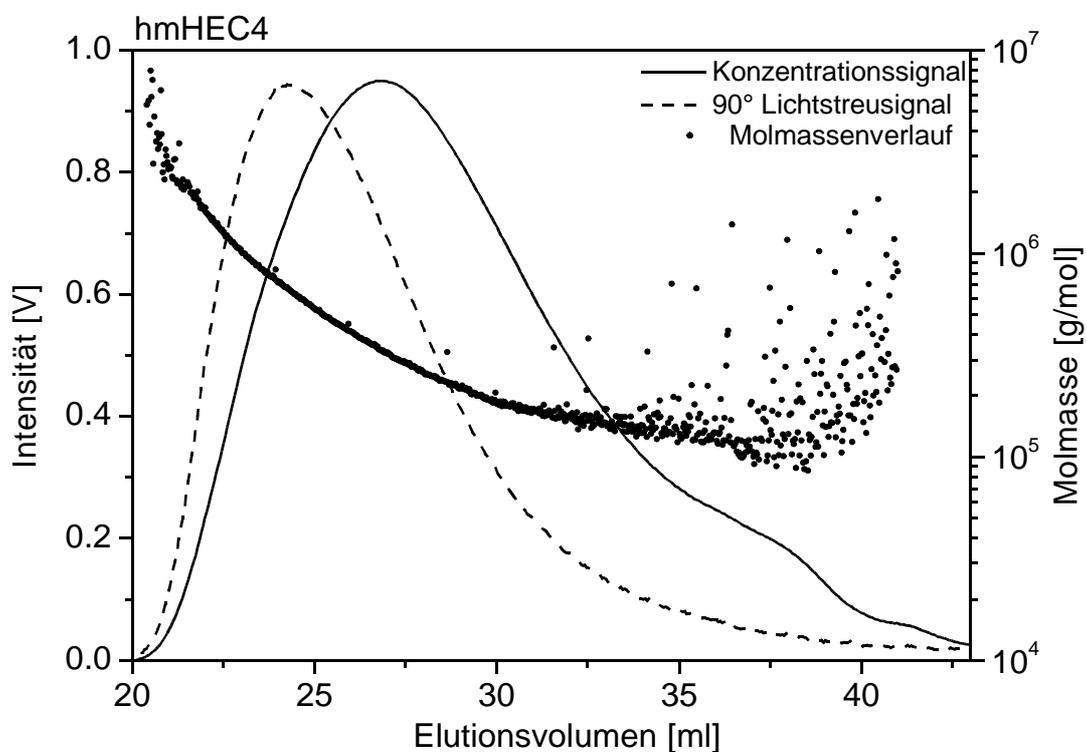


Abbildung 92: Elutionsdiagramm der Probe *hmHEC4* bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

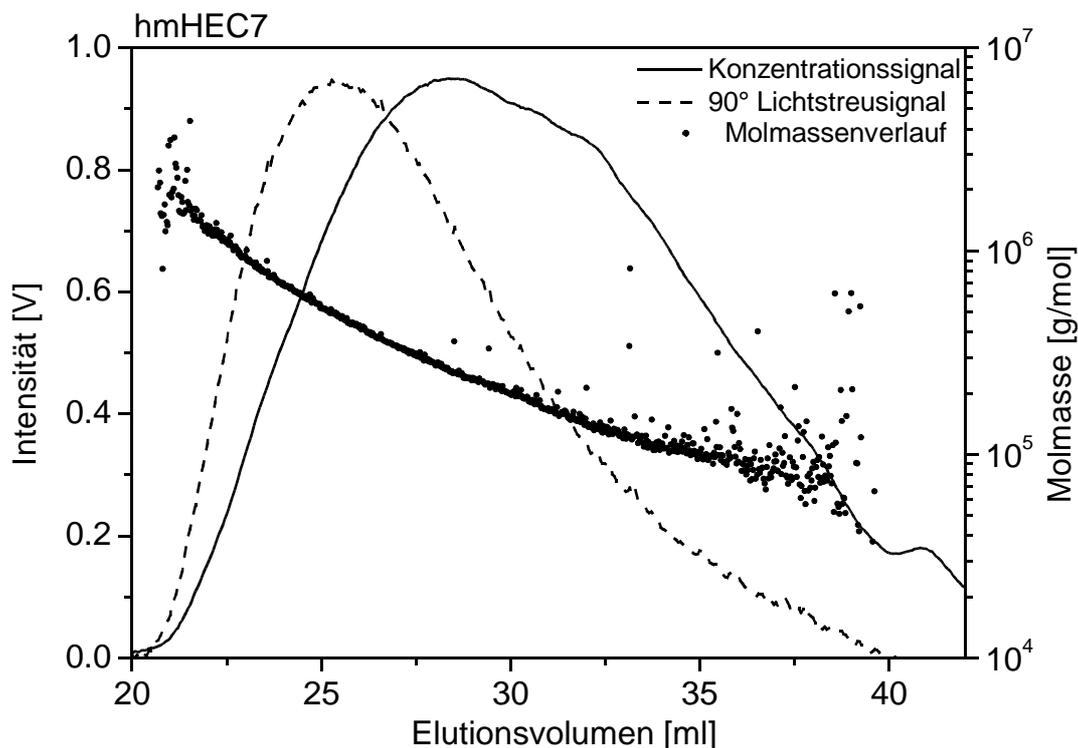


Abbildung 94: Elutionsdiagramm der hmHEC7 bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

Die beiden Substanzen *hmHEC6* und *hmHEC7*, deren Elutionsdiagramme in den Abbildungen 93 und 94 dargestellt sind, hatten mit 64 % und 51 % nur unzureichende Wiederfindungsraten. Die bestimmten Molmassen liegen deutlich unter den Herstellerangaben und führen zu der Schlussfolgerung, dass die hochmolekularen Anteile dieser Probe schwer löslich sind und deshalb nicht charakterisiert werden konnten. Dieser Effekt trat auch bei den Proben *hmHEC5*, *hmHEC8*, *hmHEC11*, *hmHEC12* und *hmHEC14* auf, die in der kombinierten Anlage teils deutlich geringere Molmassen zeigten.

Für die fünf charakterisierten hydrophob modifizierten Hydroxyethylcellulosen mit einer Wiederfindungsrate von mehr als 50 % sind die differenziellen Molmassenverteilungen in der Abbildung 95 aufgeführt. Die Probe *hmHEC1* hat die größten hochmolekularen Anteile, gefolgt von der Probe *hmHEC4* und erstrecken sich beide über den größten Bereich bis unter 30.000 g/mol. Die anderen Proben zeigen wesentlich engere Molmassenverteilungen, die hier aber auch nur die löslichen Bestandteile dokumentierten.

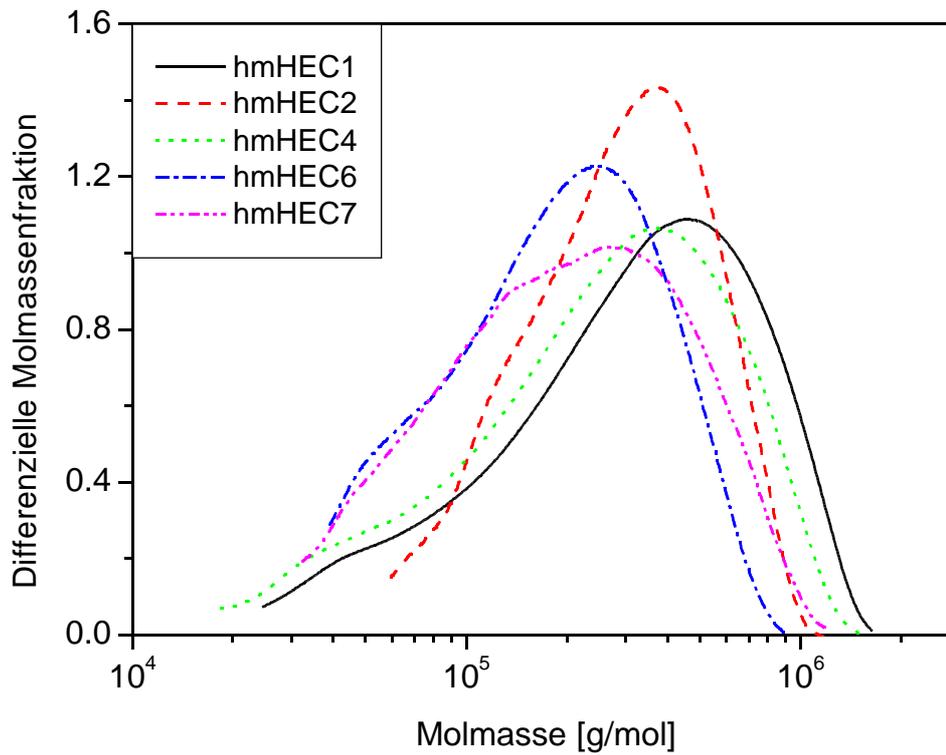


Abbildung 95: Differenzielle Molmassenverteilung der hydrophob modifizierten Hydroxyethylcellulosen mit einer Wiederfindungsrate über 50 % bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

## 4.7 Carboxymethylcellulose CMC

Carboxymethylcellulosen werden im allgemeinen als das Natriumsalz des Glykolsäureethers der Cellulose bezeichnet. Die Herstellung erfolgt durch Veretherung von aktivierter Cellulose (Alkalicellulose) mit Monochloressigsäure in Isopropanol nach dem Slurry-Verfahren. Handelsübliche Substitutionsgrade liegen zwischen 0,5 und 1,5. In der Abbildung 96 ist ein Ausschnitt aus der allgemeinen Struktur der Cellulose mit einer Angabe der spezifischen Reste für Carboxymethylcellulosen dargestellt.

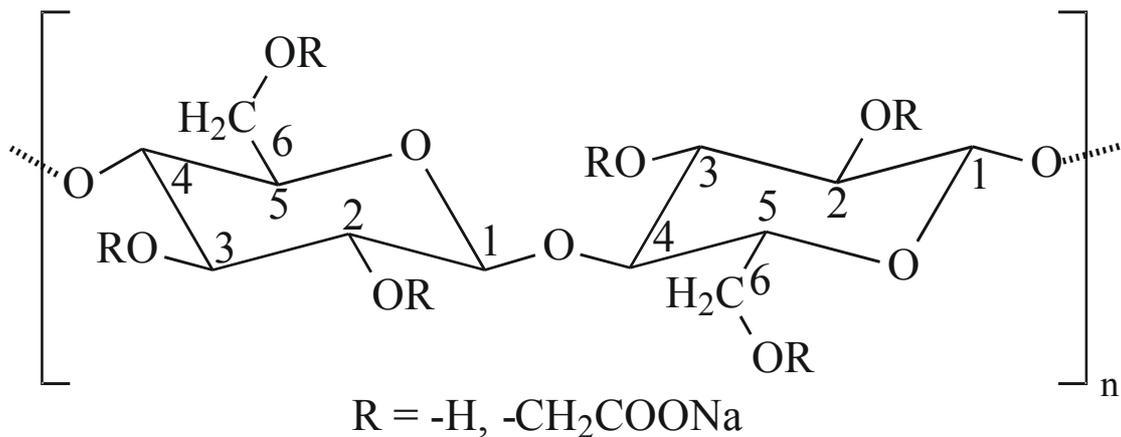


Abbildung 96: Ausschnitt aus einer Carboxymethylcellulosekette mit den verschiedenen Resten.

Die Einsatzgebiete für Carboxymethylcellulosen sind vielfältig. Sie dienen nicht nur als Verdickungsmittel, sondern auch als Tablettensprengmittel, Stabilisator, Emulgator, Bindemittel, Filmbildner, Dispergierungsmittel und Kleber. Sie werden in vielen Bereichen der Industrie, wie z.B. der Reinigungs-, Pharma-, Kosmetik-, Lebensmittel-, Tabak-, Farb-, Keramik-, Papier- und Textilindustrie angewendet.

Für die Untersuchungen stand ein Probensatz von 11 Carboxymethylcellulosen der Firma Wolff Cellulosics (Walsrode, Deutschland) zur Verfügung. Für die Proben CMC5, CMC8 und CMC11 hat der Hersteller einen DS von 0,7 angegeben, während für alle anderen Carboxymethylcellulosen ein Wert von 1,0 angegeben wurde. Zur näheren Charakterisierung der Carboxymethylcellulosen wurde als erstes der Salz- und Feuchtigkeitsgehalt ermittelt. Für die Analyse des Salzgehalts musste die makromolekulare Struktur zerstört werden. Dafür wurden die elf Carboxymethylcellulosen in Salpetersäure und Perchlorsäure aufgenommen und der Natriumionengehalt mit Hilfe der Atomabsorptionsspektroskopie AAS quantifiziert.

Der Feuchtigkeitsgehalt der Proben wurde mittels Gefriertrocknung bis zur Massenkonstanz bestimmt. Die Messwerte der Salz- und Trockengehaltsbestimmung sind in der Tabelle 39 aufgeführt.

Tabelle 39: Trocken- und Salzgehalt der elf Carboxymethylcellulosen.

<i>Probe</i>	<i>Trockengehalt</i> [wt %]	<i>Feuchtigkeitsgehalt</i> [wt %]	<i>Salzgehalt</i> Na [wt %]
CMC1	94,4	5,6	8,8
CMC2	96,0	4,0	8,7
CMC3	93,9	6,1	8,7
CMC4	94,1	5,9	9,1
CMC5	94,6	5,4	8,3
CMC6	93,4	6,6	8,8
CMC7	90,1	9,9	8,6
CMC8	93,7	6,3	7,9
CMC9	94,1	5,9	8,8
CMC10	94,5	5,5	9,1
CMC11	93,2	6,8	8,1

Der Feuchtigkeitsgehalt variierte zwischen 4,0 und 9,9 Gewichtsprozent und der Salzgehalt zwischen 7,9 und 9,1 Gewichtsprozent. Die drei Carboxymethylcellulosen *CMC5*, *CMC8* und *CMC11*, die sich durch einem geringeren durchschnittlichen Substitutionsgrad von 0,7 auszeichneten hatten auch die geringsten Salzgehalte mit 7,9 bis 8,3 gewichtsprozent. Die Carboxymethylcellulosen mit einem durchschnittlichen Substitutionsgrad von 1 liegen zwischen 8,6 und 9,1 Gewichtsprozent. In salzfreien Lösungsmitteln führen die elektrostatischen Wechselwirkungen der Carboxylatgruppen zu einer zusätzlichen Aufweitung der Moleküle. Deshalb wurde in einer 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid gemessen. Da die Charakterisierung der Carboxymethylcellulosen mittels Viskosimetrie und kombinierter Anlage *SEC/MALLS/RI* im Bereich der verdünnten Lösungen liegen, wird durch den Einsatz einer 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid auch die unterschiedlichen Salzgehalte überkompensiert.

Die Bestimmung der viskosimetrischen Daten erfolgte mit einer Ubbelohde Mikrokapillare Ic in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C. Dazu wurde von jeder

Carboxymethylcellulose eine ca. 0,1 %ige Stammlösung angesetzt, aus der eine Verdünnungsreihe mit 9 verschiedenen Konzentrationen hergestellt wurde. Vor der Anfertigung der Verdünnungsreihe wurde die Stammlösung filtriert um ggf. Verschmutzungen (z.B. Staubkörner) oder ungelöste Bestandteile zu entfernen. Dabei zeigten sich in der Probenreihe gewisse Unterschiede. Die Carboxymethylcellulosen *CMC1* bis *CMC5* ließen sich problemlos über eine Filterfritte der Porosität 3 (Porengröße von 40 bis 16  $\mu\text{m}$ ) filtrieren, und es war kein Rückstand zu beobachten. Die Proben *CMC6* bis *CMC11* waren nur durch das Anlegen eines leichten Unterdrucks aus einer Wasserstrahlpumpe zu filtrieren, wobei bei der Probe *CMC10* ein geringer unlöslicher Anteil in der Fritte zurückblieb. Bei den Proben *CMC8* und *CMC11* blieben gelartige Bestandteile zurück. Die drei Carboxymethylcellulosen *CMC5*, *CMC8* und *CMC11* mit dem niedrigeren *DS* von 0,7 zeigten gegenüber den Carboxymethylcellulosen mit einem *DS* von 1 ein schlechteres Lösungsverhalten. Die ermittelten Daten sind in der Abbildung 97 in einem Huggins-Plot aufgetragen.

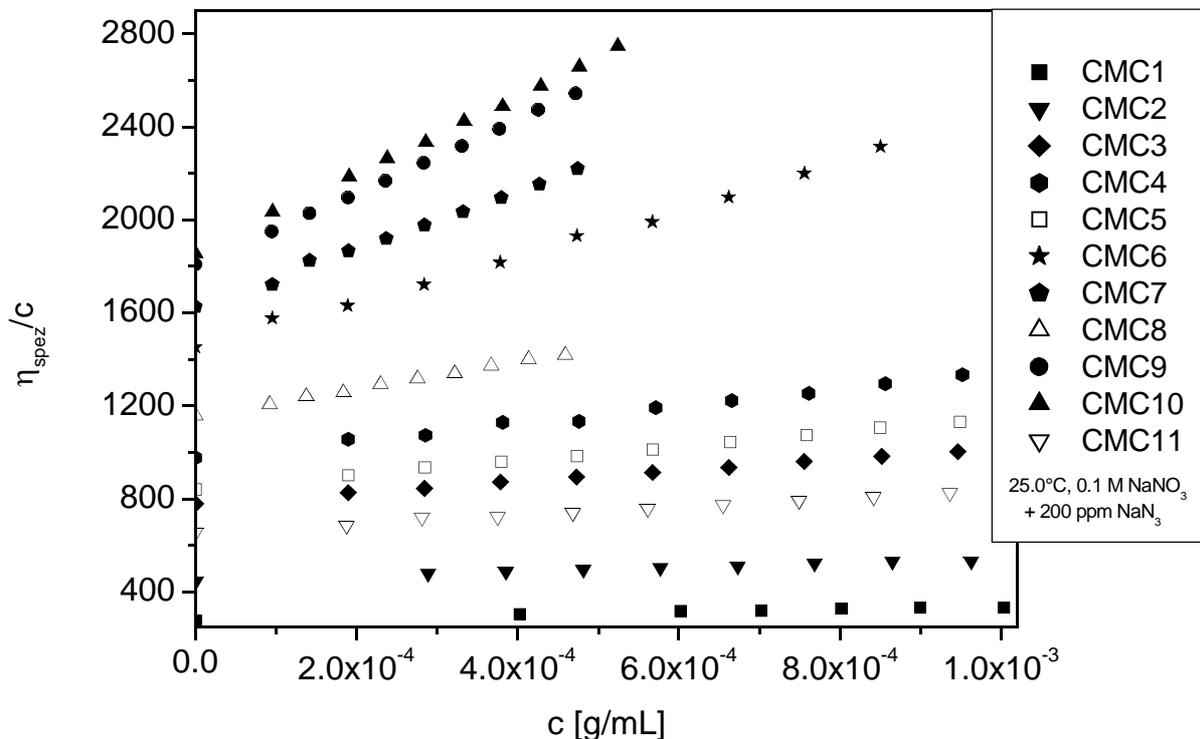


Abbildung 97: Huggins-Plot der elf Carboxymethylcellulosen, vermessen mit einer Ubbelohde Mikrokapillare  $I_c$  in  $0,1 \text{ M}$  Natriumnitratlösung mit  $200 \text{ ppm}$  Natriumazid bei  $25^\circ\text{C}$ .

Die daraus extrapolierten Staudingerindizes wurden in der Tabelle 40 zusammengefasst. Die Werte für den Staudingerindex decken bei den Carboxymethylcellulosen einen großen Bereich von 275 bis 1855 cm<sup>3</sup>/g ab.

*Tabelle 40: Viskosimetrische Daten der Carboxymethylcellulosen bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.*

<i>Probe</i>	$[\eta]$ [cm <sup>3</sup> /g]	$K_H \cdot [\eta]^2$	$K_H$	$c^*_{[\eta]}$ [g/cm <sup>3</sup> ]
<i>CMC1</i>	275	62996	0,83	9,1 * 10 <sup>-3</sup>
<i>CMC2</i>	443	82312	0,51	5,6 * 10 <sup>-3</sup>
<i>CMC3</i>	778	241698	0,40	3,2 * 10 <sup>-3</sup>
<i>CMC4</i>	976	370770	0,39	2,6 * 10 <sup>-3</sup>
<i>CMC5</i>	840	309047	0,44	3,0 * 10 <sup>-3</sup>
<i>CMC6</i>	1452	989273	0,47	1,7 * 10 <sup>-3</sup>
<i>CMC7</i>	1626	1270018	0,48	1,5 * 10 <sup>-3</sup>
<i>CMC8</i>	1158	603055	0,45	2,2 * 10 <sup>-3</sup>
<i>CMC9</i>	1808	1656181	0,46	1,4 * 10 <sup>-3</sup>
<i>CMC10</i>	1855	256881	0,58	1,3 * 10 <sup>-3</sup>
<i>CMC11</i>	654	183914	0,43	3,9 * 10 <sup>-3</sup>

Um die Staudingerindizes mit den entsprechenden Molmassen korrelieren zu können, wurden die elf Carboxymethylcellulosen mit der kombinierten Anlage aus Größenausschlusschromatographie, Vielwinkellichtstreuphotometer und Konzentrationsdetektor vermessen. Mit dieser Absolutmethode wurden neben der gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  und dem Gyrationradius  $R_{Gz}$  auch deren Verteilungen bestimmt. Als Säulensatz kamen die drei PL<sub>AQUA</sub>-Säulen der Firma Polymer Labs zum Einsatz. In den nachfolgenden Abbildungen 98 bis 108 sind die Elutionsdiagramme der elf Carboxymethylcellulosen dargestellt. Neben dem Konzentrationssignal und dem Lichtstreuungssignal ist auch noch der Molmassenverlauf aufgetragen.

Das Elutionsdiagramm der Carboxymethylcellulose *CMC1* in Abbildung 98 zeigt einen bimodalen Verlauf im Streulichtsignal. Hier liegen zwei Maxima vor, einmal im hochmolekularen Bereich bei ca. 18 ml und bei 21,5 ml. Im Konzentrationssignal ist bei 18 ml eine ausgeprägte Schulter vorhanden und das Maximum im Konzentrationssignal liegt bei 24 ml. Wie bei allen Carboxymethylcellulosen in diesem Probenatz ist das Konzentrationssignal nicht basisliniengetrennt zum Salzpeak. Auch der Molmassenverlauf zeigt einen geschwungenen Verlauf zwischen den beiden Maxima im Lichtstreusignal. Die gewichtsmittlere Molmasse  $M_w$  wurde zu 176.000 g/mol bestimmt, und war damit die kleinste im gesamten Probenatz.

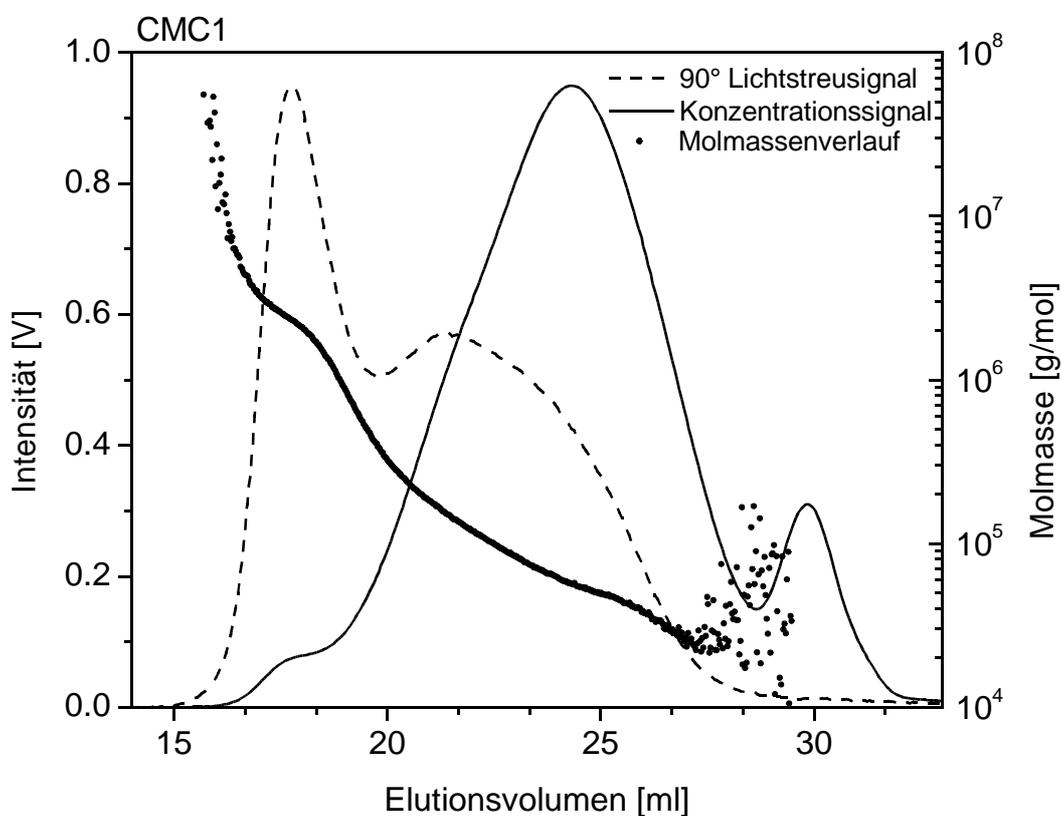


Abbildung 98: Elutionsdiagramm der Carboxymethylcellulose *CMC1* bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid..

Die Probe *CMC2*, in der Abbildung 99, zeigt hier einen ähnlichen Verlauf wie die Probe *CMC1*. Während die Lage des ersten, hochmolekularen Maximums im Lichtstreusignal gleich geblieben ist, ist das zweite Maximum bei ca. 20 ml. Auch im Konzentrationssignal zeigen sich feine Unterschiede. Die bei der Probe *CMC1* stark ausgeprägte Schulter im hochmolekularen Bereich ist bei der *CMC2* nur noch schwach ausgeprägt.

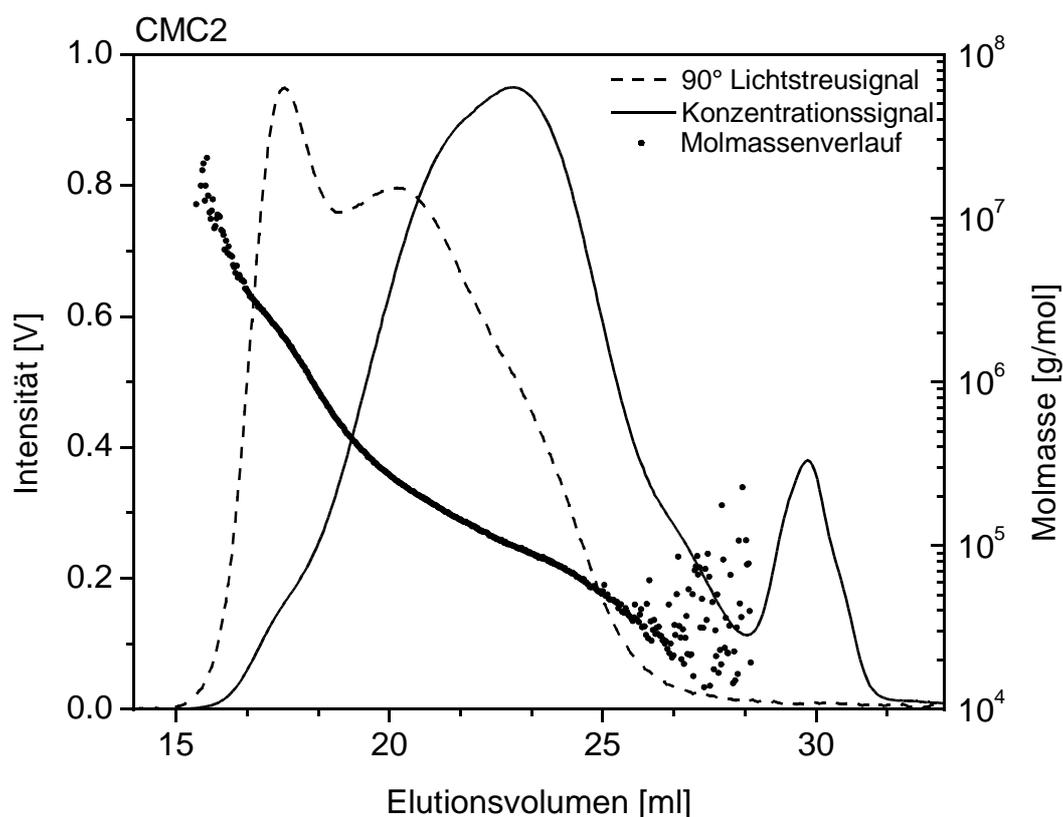


Abbildung 99: Elutionsdiagramm der Carboxymethylcellulose CMC2 bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid..

Außerdem zeigt das Maximum eine Schulter im Verlauf und liegt bei einem kleineren Elutionsvolumen. Auch zum Salzpeak hin findet sich ein bauchiger Verlauf. Der Molmassenverlauf ist hier nur noch leicht geschwungen. Die gewichtsmittlere Molmasse betrug bei der Probe CMC2 274.000 g/mol.

In der Abbildung 100 ist die Carboxymethylcellulose CMC3 mit einer gewichtsmittleren Molmasse von 375.000 g/mol aufgetragen. Im Gegensatz zu den beiden vorherigen Proben zeigt diese nur ein Maximum im Lichtstreuungssignal, welches aber eine vorgelagerte Schulter hat. Das Maximum des Lichtstreuungssignals liegt bei ca. 20 ml, also vergleichbar dem zweiten Maximum der Probe CMC2. Das Konzentrationssignal weist ein klares Maximum bei ca. 21,5 ml auf und kommt damit im Vergleich zu den Proben CMC1 und CMC2 bei sehr viel geringeren Elutionsvolumen.

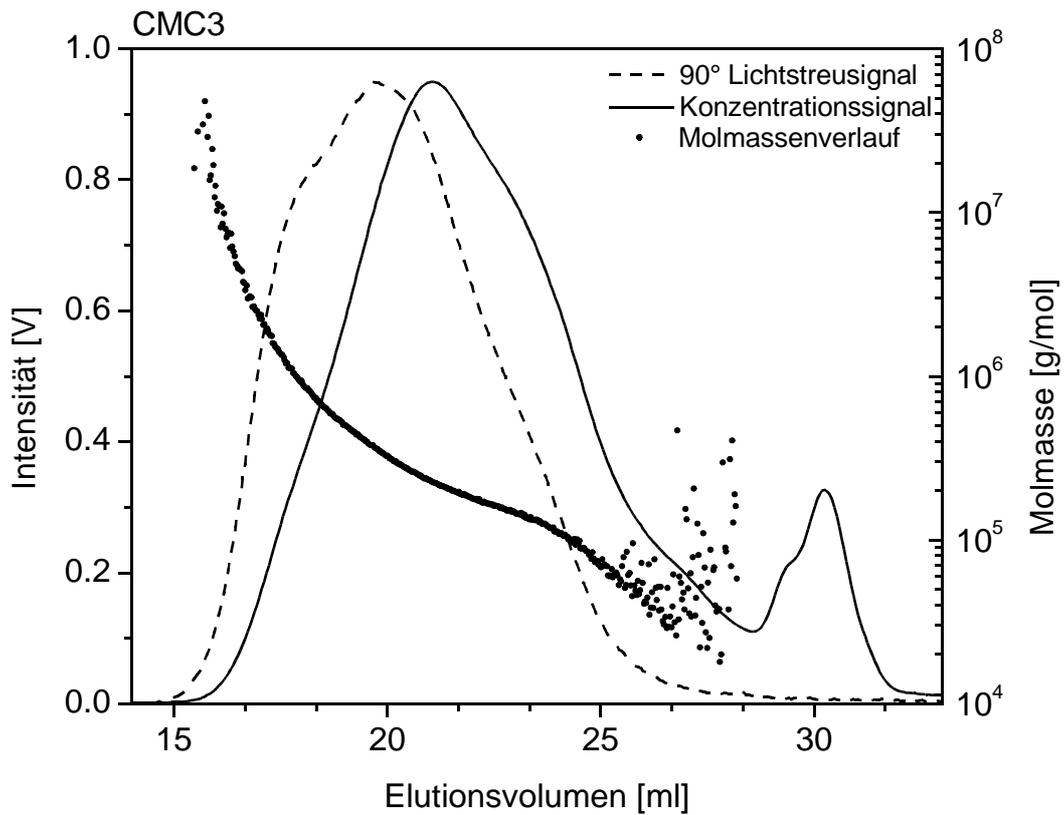


Abbildung 100: Elutionsdiagramm der Carboxymethylcellulose CMC3.

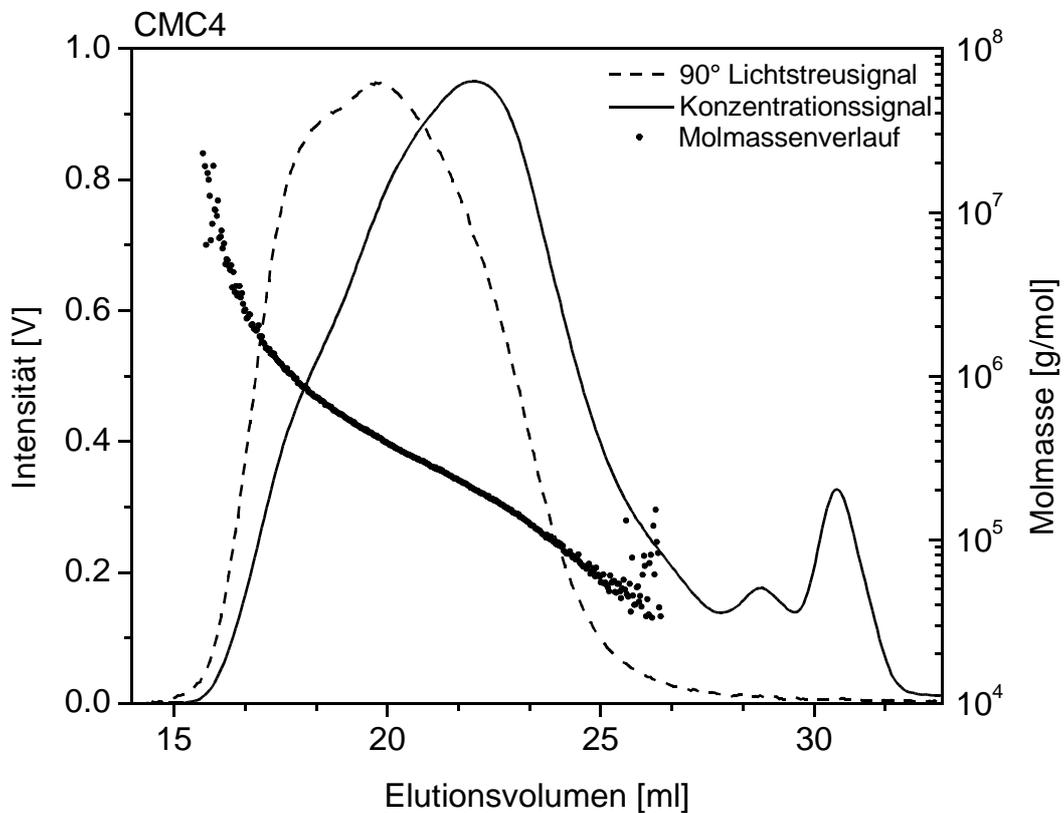


Abbildung 101: Elutionsdiagramm der Carboxymethylcellulose CMC4 in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

---

Bei der Probe *CMC4* konnte ein ähnliches Verhalten wie bei der Probe *CMC3* detektiert werden. Im Lichtstreuungssignal in der Abbildung 101 liegt das Maximum wieder bei 20 ml Elutionsvolumen, während davor eine leichte Schulter detektiert wurde. Der Verlauf des Konzentrationssignals ist aber anders, während die Probe *CMC3* erst nach dem Maximum eine Schulter im Verlauf zeigt, ist es bei der Probe *CMC4* genau anders herum. Hier ist eine Schulter im Verlauf vor dem Maximum. Außerdem ist hier noch ein Peak vor dem eigentlichen Salzpeak zu sehen, der aber in der Auswertung keine Rolle spielt, da für diesen Bereich kein Lichtstreuungssignal vorliegt. Die gewichtsmittlere Molmasse beträgt bei der Probe *CMC4* 385.000 g/mol.

In der Abbildung 102 ist das Elutionsdiagramm der Carboxymethylcellulose *CMC5* dargestellt, deren gewichtsmittlere Molmasse 696.000 g/mol beträgt. Dies ist die erste der drei Proben mit einem *DS* von 0,7. Hier liegt im Lichtstreuungssignal ein schmales Maximum bei einem Elutionsvolumen von 17 ml vor. In dem Verlauf des Lichtstreuungssignals nach dem Maximum ist ein welliger Verlauf zwischen 18 und 21 ml festzustellen. Dieser Verlauf zeigt sich auch im Konzentrationssignal im selben Elutionsbereich und endet im Maximum bei 22,5 ml.

Bei der Probe *CMC6* in der Abbildung 103 liegen wieder zwei Maxima im Lichtstreuungssignal vor. Das größere Maximum wurde bei 17,5 ml und das kleinere bei 21 ml detektiert. Zwischen den beiden Maxima liegt noch eine Schulter. Im Konzentrationssignal sieht man zwei Schultern vor dem Maximum bei 21,2 ml Elutionsvolumen. Auch der Molmassenverlauf zeigt einen geschwungenen Verlauf auf. Die gewichtsmittlere Molmasse der Probe *CMC6* beträgt 713.000 g/mol.

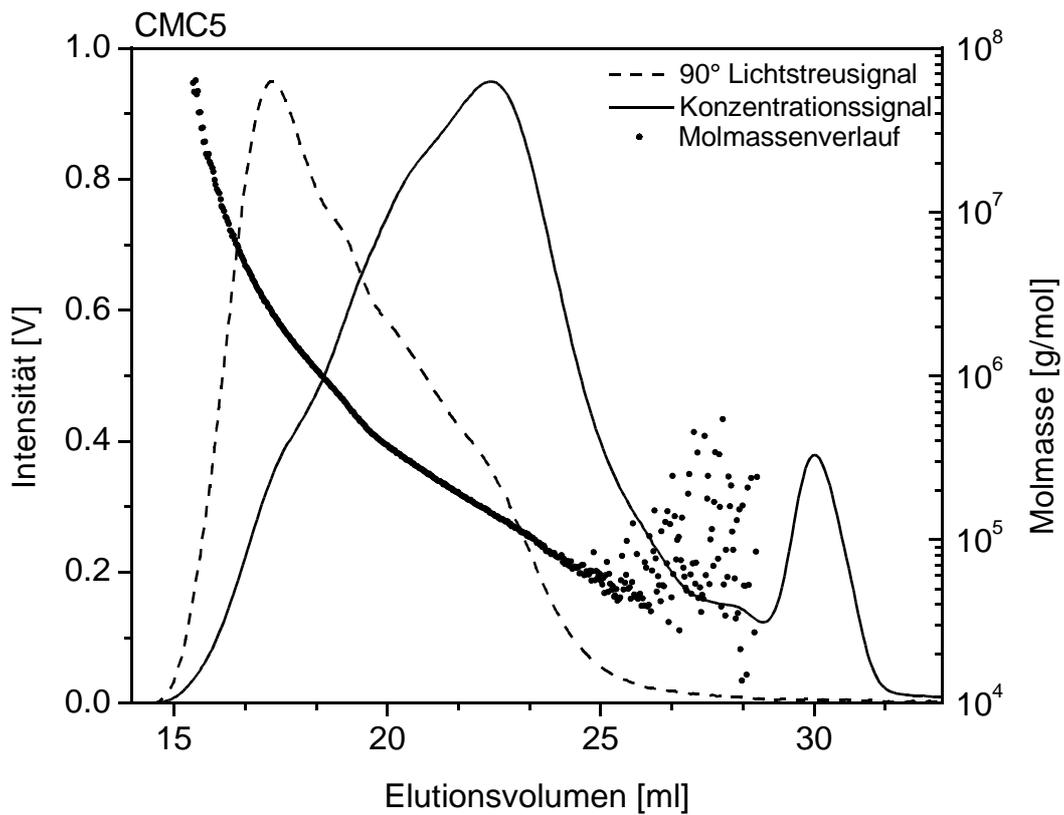


Abbildung 102: Elutionsdiagramm der Carboxymethylcellulose CMC5 in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

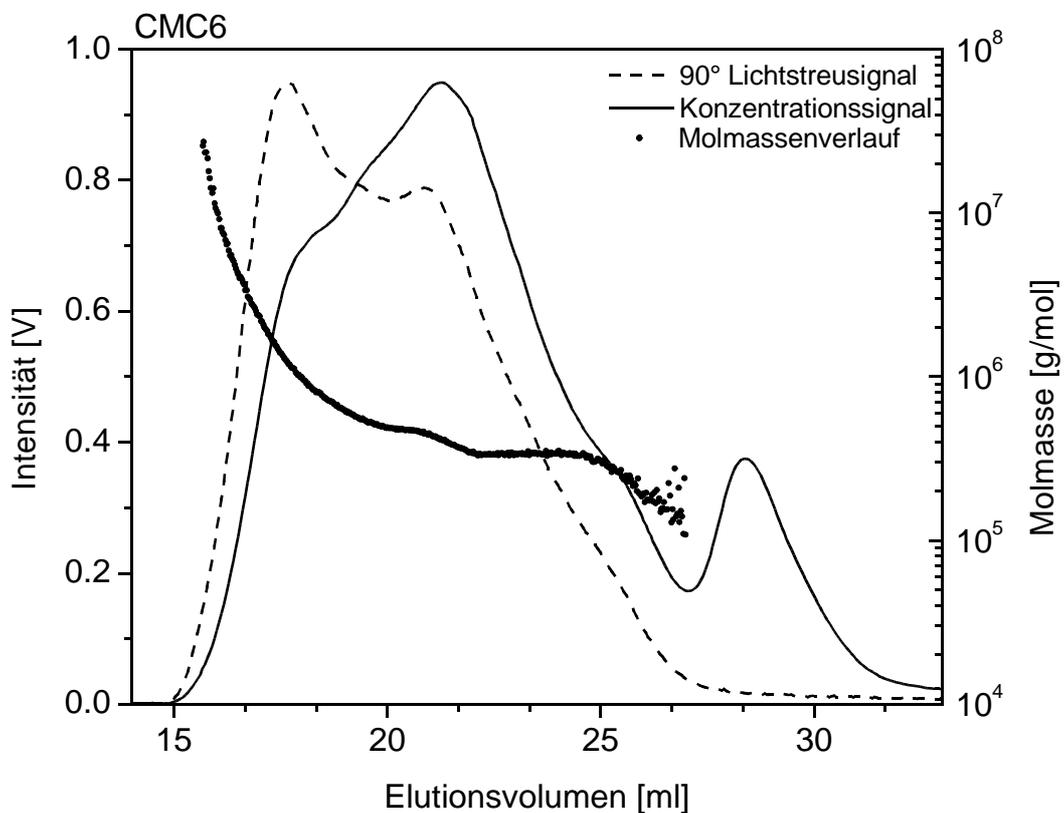


Abbildung 103: Elutionsdiagramm der Carboxymethylcellulose CMC6.

Die Carboxymethylcellulose *CMC7* mit einer Molmasse von 754.000 g/mol zeigt für beide Signale einen deformierten Verlauf der in Abbildung 104 wiedergegeben ist. Das Lichtstreusignal weist zwei Maxima auf, die kurz hintereinander liegen und schwach ausgebildet sind. Im Konzentrationssignal ist das erste Maximum des Lichtstreusignals als sehr kleiner Peak zu erkennen. Auch hier liegt ein breites Maximum vor. In dem Bereich zwischen dem ersten und zweiten Maximum des Lichtstreusignals ändert sich auch der Molmassenverlauf erheblich.

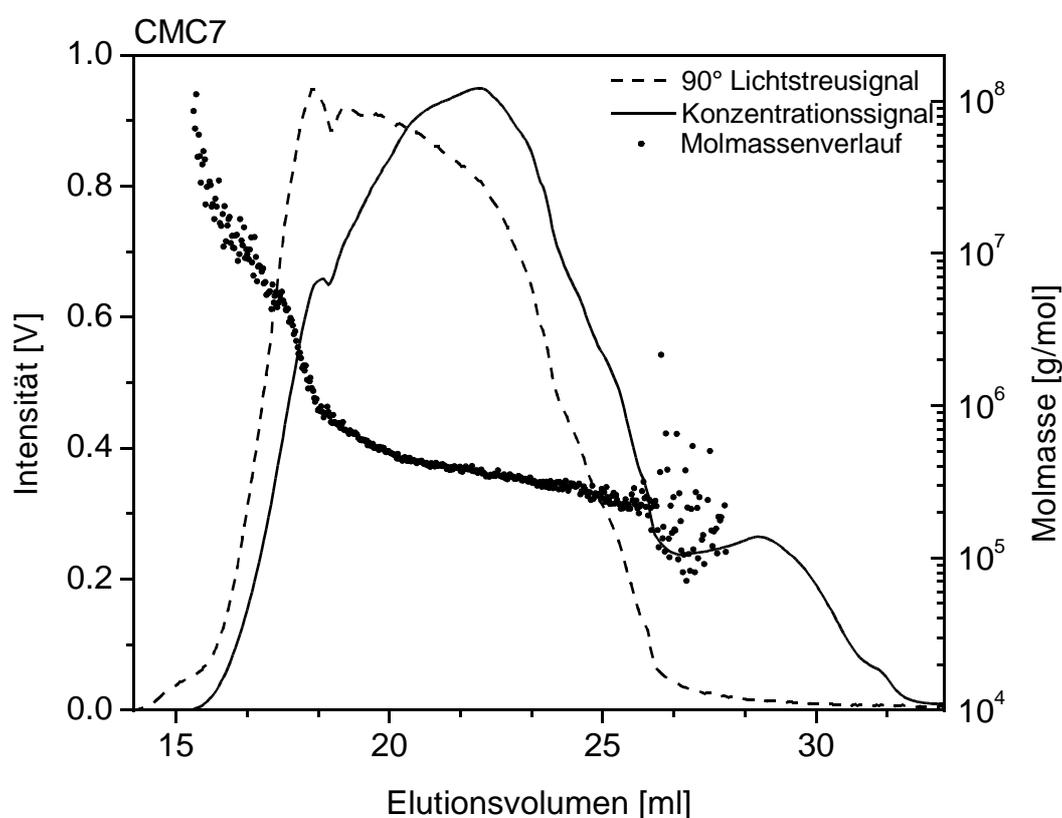


Abbildung 104: Elutionsdiagramm der Carboxymethylcellulose *CMC7* in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

Die Carboxymethylcellulose *CMC8* ist die zweite Probe mit einem *DS* von 0,7. Der Verlauf des Lichtstreusignals in Abbildung 105 ist dem der Probe *CMC5* auf der Seite 152 ähnlich. Nur das Konzentrationssignal verläuft anders. Hier liegt das Maximum bei 20 ml und sowohl vor als auch nach dem Maximum sind Schultern vorhanden. Auch der Molmassenverlauf zeigt um 20 ml einen Steigungswechsel. Die Molmasse beträgt 766.000 g/mol.

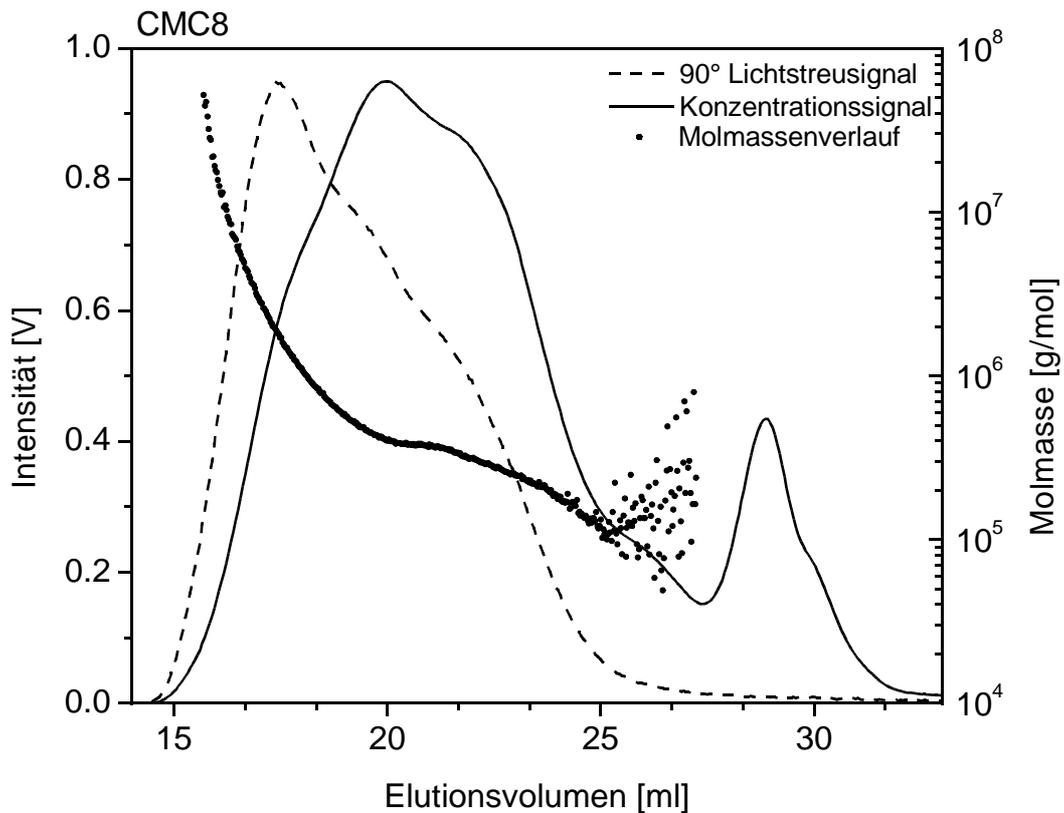


Abbildung 105: Elutionsdiagramm der Carboxymethylcellulose CMC8 in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

Mit 1.157.000 g/mol ist die Probe CMC9 in Abbildung 106 die größte im Probensatz und ist vom Elutionsdiagramm vergleichbar mit der Carboxymethylcellulose CMC10 in Abbildung 107, die aber eine geringere Molmasse von 839.000 g/mol aufwies. Bei der Probe CMC10 trat das Problem auf, dass die Probensubstanz nicht vollständig gelöst werden konnte und somit keine vollständige Charakterisierung aller Bestandteile der Probe möglich war.

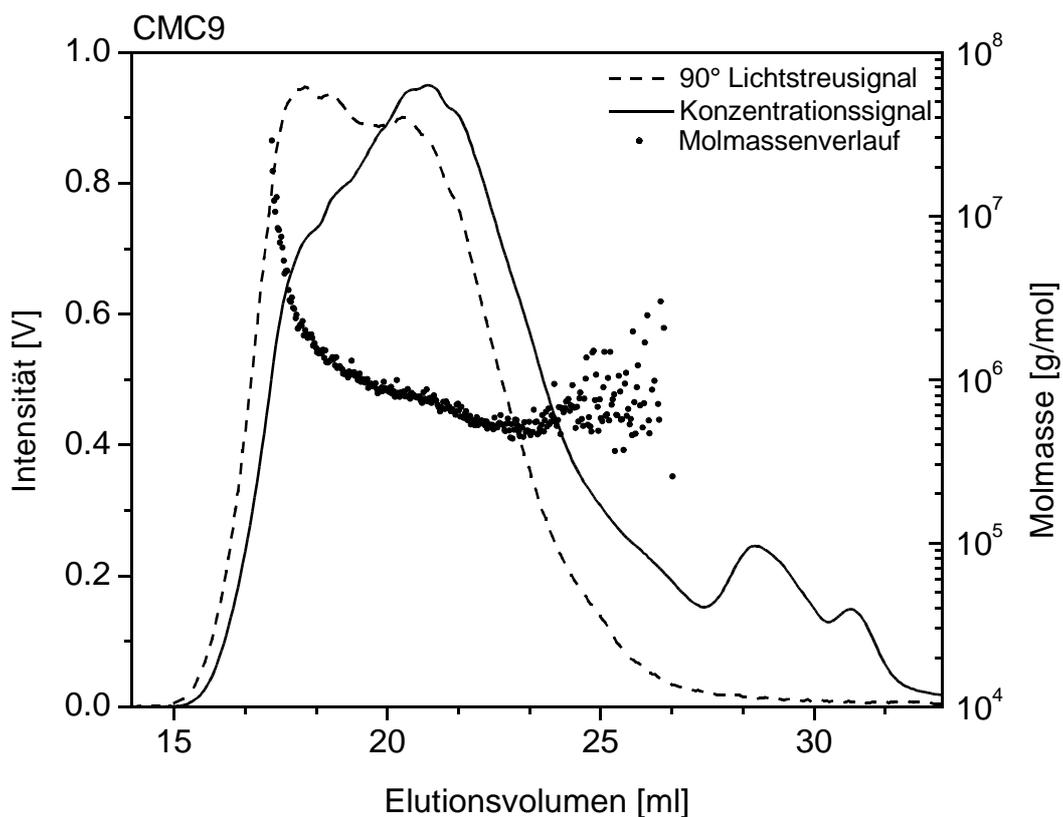


Abbildung 106: Elutionsdiagramm der Carboxymethylcellulose CMC9.

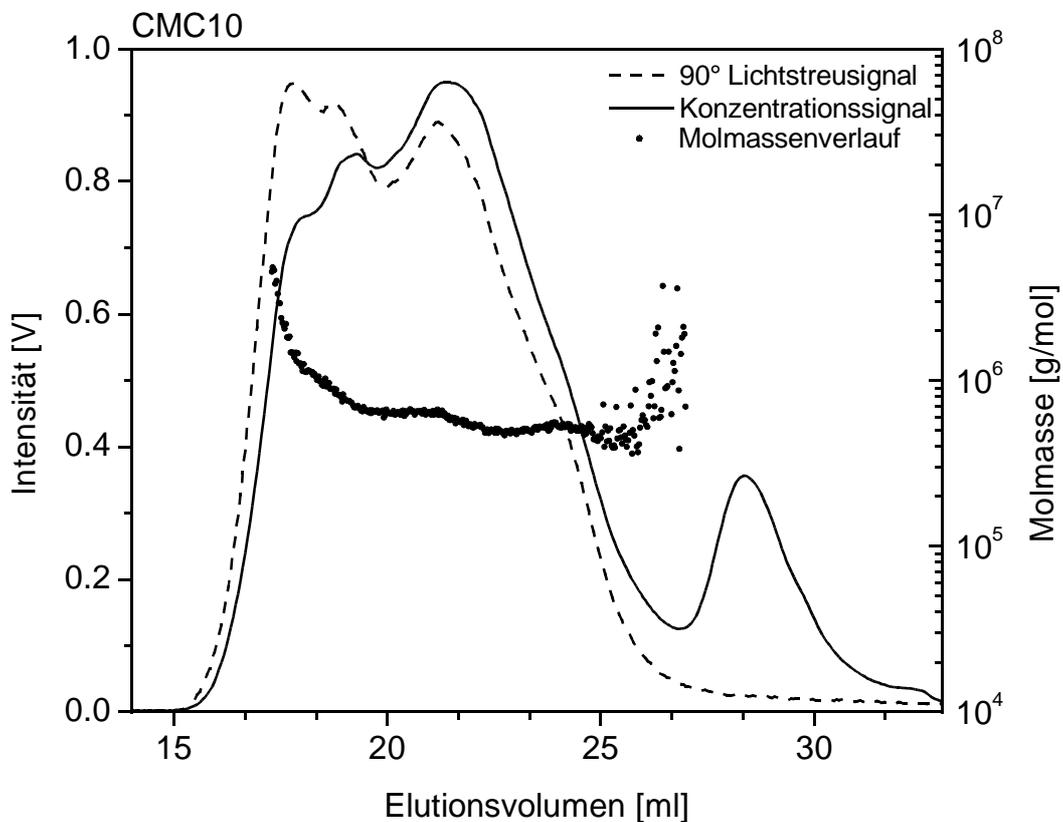


Abbildung 107: Elutionsdiagramm der Carboxymethylcellulose CMC10.

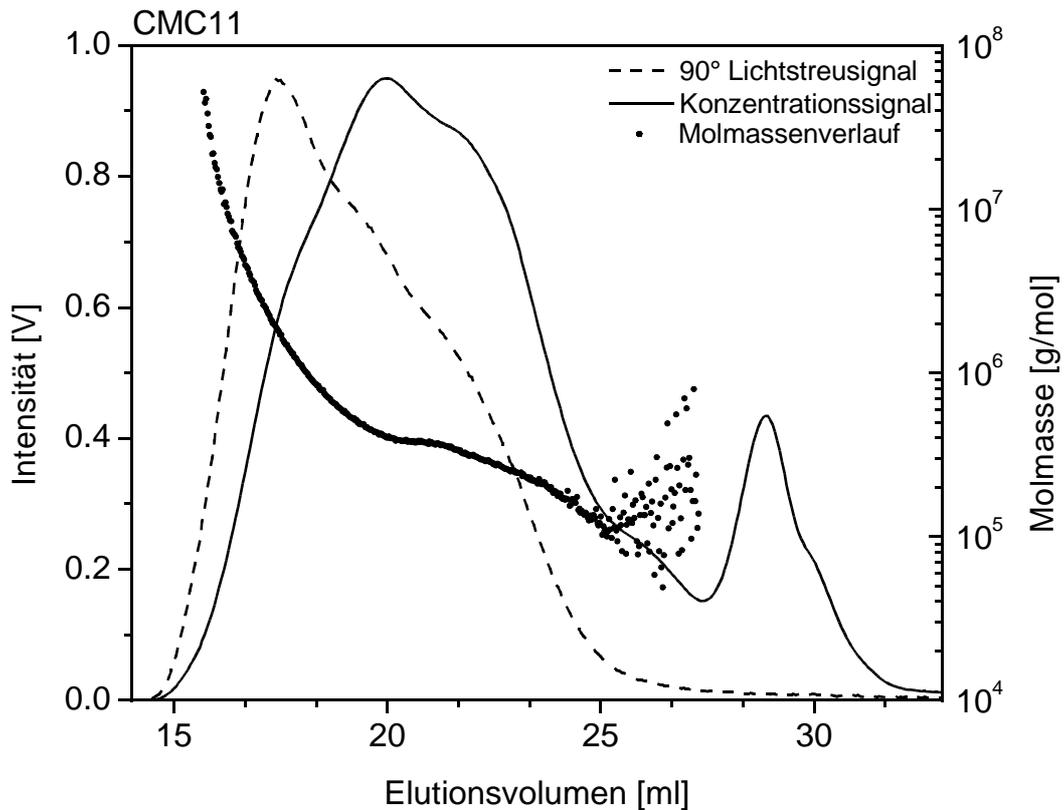


Abbildung 108: Elutionsdiagramm der Carboxymethylcellulose CMC11 in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

Die Carboxymethylcellulose CMC11 war die dritte Probe mit einem  $DS$  von 0,7 und ist in der Abbildung 108 dargestellt. Die gewichtsmittlere Molmasse von 992.000 g/mol spiegelt nicht die tatsächliche Molmasse der Probe wieder. Ähnlich den Proben CMC8 und CMC10 löste sich die Probe nicht vollständig bei der Probenpräparation und es blieb ein unlöslicher Rückstand zurück.

Bei der Auswertung der Daten wurde bei allen Carboxymethylcellulosen die Molmasse aufgrund des geschwungenen Molmassenverlaufs über ein Polynom angefitet. Die Messdaten der kombinierten Anlage SEC/MALLS/RI für den kompletten Probensatz der Carboxymethylcellulosen sind in der Tabelle 41 aufgeführt. In der Abbildung 109 sind die differenziellen Molmassenverteilungen der Carboxymethylcellulosen aufgetragen.

Zur Übersichtlichkeit wurden nicht alle Proben aufgetragen. Alle Proben zeigen einen monomodalen Verlauf mit einem klareren Maximum. Die Proben *CMC1* bis *CMC5* beginnen im Gegensatz zu den beiden Proben *CMC8* und *CMC11* im Molmassenbereich unter 10.000 g/mol. Das Maximum verschiebt sich bei den Proben *CMC1* bis *CMC4* weiter in den höhermolekularen Bereich. Nur die Probe *CMC5* liegt mit ihrem Maximum hinter den Proben *CMC3* und *CMC4*. Dafür ist der Anteil im hochmolekularen Bereich höher und erstreckt sich auch zu größeren Molmassen.

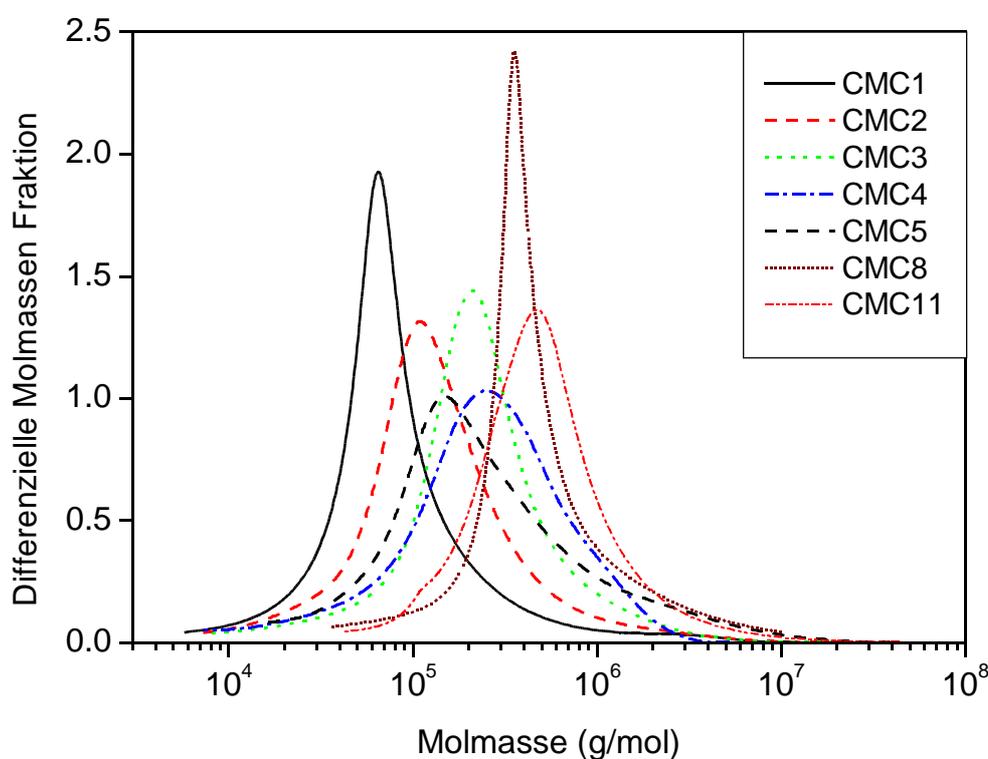


Abbildung 109: Differenzielle Molmassenfraktion von acht Carboxymethylcellulosen in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

Tabelle 41: Messdaten der elf Carboxymethylcellulosen in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C..

<i>Probe</i>	$M_w$ [g/mol]	$M_w/M_n$	WF [wt %]	$R_{gz}$ [nm]	$c^*_{LS}$ [g/cm <sup>3</sup> ]
CMC1	176.000	3,2	96	60	1,1 * 10 <sup>-4</sup>
CMC2	274.000	3,8	94	76	8,2 * 10 <sup>-5</sup>
CMC3	375.000	2,9	95	95	5,7 * 10 <sup>-5</sup>
CMC4	385.000	3,2	90	97	5,5 * 10 <sup>-5</sup>
CMC5	696.000	5,2	91	128	4,3 * 10 <sup>-5</sup>
CMC6	713.000	1,9	96	115	6,1 * 10 <sup>-5</sup>
CMC7	754.000	1,9	76	120	5,7 * 10 <sup>-5</sup>
CMC8	766.000	2,4	79	120	5,8 * 10 <sup>-5</sup>
CMC9	1.157.000	2,0	82	154	4,1 * 10 <sup>-5</sup>
CMC10	839.000	1,4	42	135	4,5 * 10 <sup>-5</sup>
CMC11	992.000	2,9	52	154	3,6 * 10 <sup>-5</sup>

Aus den Daten der Carboxymethylcellulosen mit einem durchschnittlichen Substitutionsgrad von 1 wurde eine Struktur-Eigenschafts-Beziehung ermittelt. Dabei wurden alle Proben außer der CMC10 berücksichtigt, da diese nicht vollständig löslich war.

Tabelle 42: Struktur-Eigenschafts-Beziehungen für Carboxymethylcellulosen.

<i>RG-M Beziehung</i>		<i>[η]-M-Beziehung</i>		<i>Weitere Angaben</i>			
$K_{RG}$	$\nu$	$K_{[\eta]}$	a	Lösungsmittel	Methode	Quelle	DS
2,16 * 10 <sup>-1</sup>	0,47	1,06 * 10 <sup>-3</sup>	1,05	0,1 M NaNO <sub>3</sub>	SEC	Diese Arbeit	1,0
3,70 * 10 <sup>-1</sup>	0,39	1,98 * 10 <sup>-1</sup>	0,64	0,5 M NaNO <sub>3</sub>	SEC	Kaiser [163]	0,9
4,00 * 10 <sup>-1</sup>	0,40	-	-	0,1 M NaNO <sub>3</sub>	FFFF	Roessner [138]	0,85
-	-	5,85 * 10 <sup>-2</sup>	0,80	0,01 M NaCl	SEC	Griebel [164]	1,0

[163] Kaiser, U., *Bestimmung der Molmassen und Molmassenverteilungen zur Charakterisierung von Polysacchariden*, Dissertation Universität Hamburg, **1991**

[138] Roessner, D., *Entwicklung der neuartigen Methode Programmed Force Field Flow Field-Flow Fractionation/Multi-Angle Laser Light Scattering und Anwendung der Size Exclusion Chromatography/Multi-Angle Laser Light Scattering Methode zur Strukturanalyse hoch- und niedermolekularer wasserlöslicher Polysaccharide*, Dissertation Universität Hamburg, **1994**

[164] Griebel, T., *Der Einfluß der molekularen Struktur auf die viskoelastischen Eigenschaften von wäßrigen Natriumcarboxymethylcelluloselösungen*, Dissertation Universität Hamburg, **1992**

#### 4.8 Methylhydroxyethylcellulose MHEC

Methylhydroxyethylcellulose *MHEC* ist ein nichtionischer Cellulosemischether, der durch Derivatisierung mit zwei verschiedenen Substituenten gewonnen wird. In der Abbildung 110 ist ein Ausschnitt aus der allgemeinen Struktur für Cellulose mit einer Angabe der spezifischen Reste für Methylhydroxyethylcellulose dargestellt.

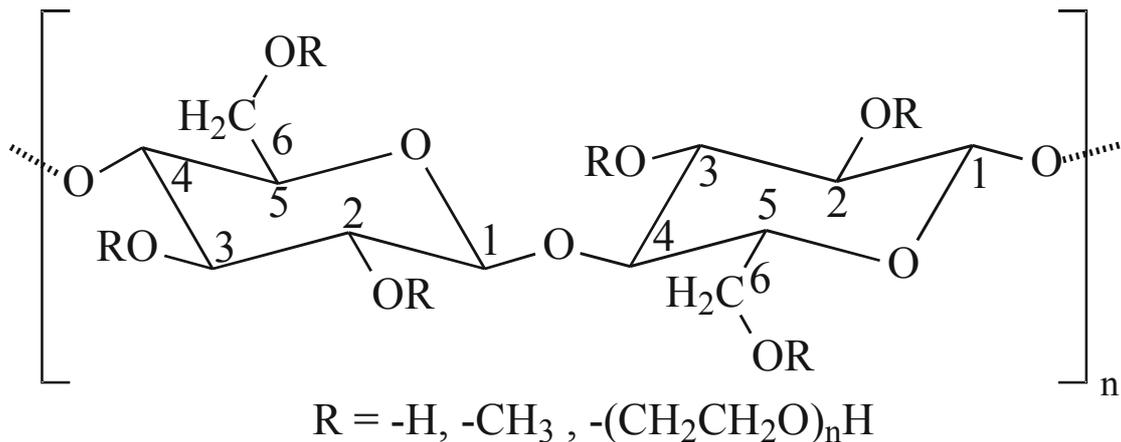


Abbildung 110: Ausschnitt aus einer Methylhydroxyethylcellulosekette mit den verschiedenen Resten *R*.

Zur Herstellung der Methylhydroxyethylcellulose *MHEC* aus Cellulose wird im ersten Reaktionsschritt die Cellulose mit wässriger Alkalilauge behandelt. Nach der Aktivierung der Cellulose erfolgt die Umsetzung mit den Veretherungsmitteln Methylchlorid (für die Methylierung) und Ethylenoxid (für die Hydroxyethylierung) in einem Mehrphasensystem. Abschließend wird das Produkt neutralisiert und gewaschen, um die nicht verbrauchte Natronlauge zu entfernen. Bei einer Hydroxyalkylierungsreaktion, wie bei der hier verwendeten Hydroxyethylierung, nimmt die Zahl der reaktiven Positionen während der Synthese nicht ab, da die eingeführten Substituenten eine Hydroxylgruppe besitzen. Deshalb wird zur genaueren Beschreibung der Struktur der molare Substitutionsgrad *MS* herangezogen, der die mittlere Anzahl der Substituenten pro Anhydroglucoseeinheit *AGU* angibt.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden zehn Methylhydroxyethylcellulosen der Firma Wolff Cellulosics (Walsrode, Deutschland) mittels der Absolutmethode *SEC/MALLS/RI* bezüglich ihrer Molmassen und Teilchengrößen bzw. deren Verteilungen charakterisiert. Bei diesen verwendeten Celluloseethern handelt es sich um Produkte, die durch Abmischen von maximal drei unterschiedlichen Zellstoffen  $Z_1$ ,  $Z_2$  und  $Z_3$  mit drei unterschiedlichen

Grenzviskositätszahlen (Herstellerangabe:  $Z_1 = 1738$ ,  $Z_2 = 925$  und  $Z_3 = 356$ ), hergestellt wurden. Nach dem Abmischen wurden die Zellstoffe derivatisiert. Die Herstellerangaben sind in der Tabelle 43 wiedergegeben. Ansonsten wurden bereits homologe Molmassenreihen von einer bestimmten Methylhydroxyethylcellulose im Arbeitskreis untersucht, wobei für diesen speziellen MS und DS Grad Struktur-Eigenschafts-Beziehungen ermittelt werden konnten [165].

Es gab zwei verschiedene Gruppen, die Gruppe 1 mit den Methylcellulosen *MHEC1* bis *MHEC5* und die Gruppe 2 mit den Methylcellulosen *MHEC6* bis *MHEC10*. Die drei Zellstoffe waren in den beiden Gruppen unterschiedlich substituiert. Dieses ist aus dem Vergleich der beiden Proben *MHEC4* und *MHEC9* erkennbar, hier liegen jeweils 100 % Zellstoff  $Z_2$  vor, einmal mit einem DS von 1,68 und einem MS von 0,19 und einmal 1,80 und 0,29.

*Tabelle 43: Herstellerangaben der Methylhydroxyethylcellulosen  
(DS, MS, Brookfieldviskosität, Zellstoffverhältnis).*

<i>Probe</i>	<i>DS</i>	<i>MS</i>	<i>V2</i> [mPa*s]	<i>Zellstoffverhältniss [%]</i> <i>Z<sub>1</sub>/Z<sub>2</sub>/Z<sub>3</sub></i>
Gruppe 1				
<i>MHEC1</i>	1,64	0,25	7857	37,5/25/37,5
<i>MHEC2</i>	1,65	0,24	8761	25/50/25
<i>MHEC3</i>	1,65	0,26	7966	12,5/75/12,5
<i>MHEC4</i>	1,68	0,19	8038	0/100/0
<i>MHEC5</i>	1,67	0,30	8399	50/0/50
Gruppe 2				
<i>MHEC6</i>	1,78	0,31	5374	37,5/25/37,5
<i>MHEC7</i>	1,75	0,30	3342	25/50/25
<i>MHEC8</i>	1,79	0,31	5875	12,5/75/12,5
<i>MHEC9</i>	1,80	0,29	6711	0/100/0
<i>MHEC10</i>	1,76	0,33	5581	50/0/50

[165] Pfefferkorn, P., Beister, J., Hild, A., Thielking, H., Kulicke, W.-M., *Determination of the molar mass and the radius of gyration, together with their distributions for methylhydroxyethylcelluloses*, in: *Cellulose*, **2003**, 10, 27-36

Als erstes wurden die Trockengehalte der Methylcellulosen mittels Gefriertrocknung bis zur Massenkonstanz bestimmt. Die Trocken- und Feuchtigkeitsgehalte sind in der Tabelle 44 aufgeführt. Der Feuchtigkeitsgehalt lag bei den Proben zwischen 4,7 und 2,5 wt %.

Tabelle 44: Trockengehalte der Methylhydroxyethylcellulosen.

<i>Probe</i>	<i>Trockengehalt</i> [wt %]	<i>Feuchtigkeitsgehalt</i> [wt %]
Gruppe 1		
<i>MHEC1</i>	97,1	2,9
<i>MHEC2</i>	95,3	4,7
<i>MHEC3</i>	97,4	2,6
<i>MHEC4</i>	96,7	3,3
<i>MHEC5</i>	96,5	3,5
Gruppe 2		
<i>MHEC6</i>	95,9	4,1
<i>MHEC7</i>	97,5	2,5
<i>MHEC8</i>	95,5	4,5
<i>MHEC9</i>	97,3	2,7
<i>MHEC10</i>	95,6	4,4

Die zehn Methylhydroxyethylcellulosen wurden viskosimetrisch mittels einer Ubbelohde-Mikrokapillare Typ Ic in 0,1 M  $\text{NaNO}_3$ -Lösung mit 200 ppm  $\text{NaN}_3$  vermessen. Zur Ermittlung der Staudingerindizes  $[\eta]$  wurden die viskosimetrischen Daten in Abbildung 111 in einem Huggins-Plot aufgetragen. Hierbei sind die beiden Gruppen gut zu erkennen, wobei die erste Gruppe mit den Methylhydroxyethylcellulosen *MHEC1* bis *MHEC5* oberhalb der zweiten Gruppe mit den Methylhydroxyethylcellulosen *MHEC6* bis *MHEC10* liegt.

Die Staudingerindizes der ersten Gruppe liegen zwischen 791 und 947  $\text{cm}^3/\text{g}$  und die der zweiten Gruppe zwischen 545 und 691  $\text{cm}^3/\text{g}$ . Die Werte sind in der Tabelle 45 wiedergegeben, zusätzlich wurde noch die kritische Polymerkonzentration der Viskosimetrie  $c^*_{[\eta]}$  berechnet.

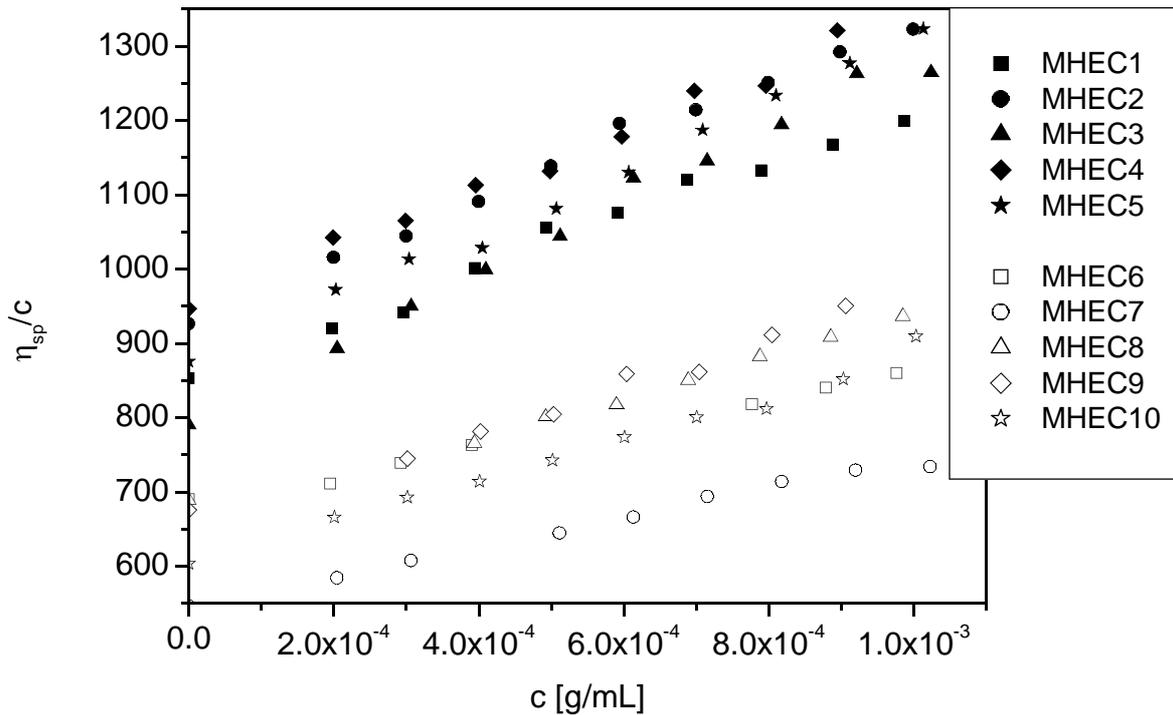


Abbildung 111: Auftragung der viskosimetrischen Daten in einem Huggins-Plot in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

Tabelle 45: Viskosimetrische Daten der Methylhydroxyethylcellulosen in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

<i>Probe</i>	$[\eta]$ [cm <sup>3</sup> /g]	$c^*_{[\eta]}$ [g/cm <sup>3</sup> ]
Gruppe 1		
<i>MHEC1</i>	853	0,00293083
<i>MHEC2</i>	926	0,00269978
<i>MHEC3</i>	791	0,00316056
<i>MHEC4</i>	947	0,00263992
<i>MHEC5</i>	876	0,00285388
Gruppe 2		
<i>MHEC6</i>	691	0,00361795
<i>MHEC7</i>	545	0,00458716
<i>MHEC8</i>	689	0,00362845
<i>MHEC9</i>	676	0,00369822
<i>MHEC10</i>	604	0,00413907

Die zehn Methylhydroxyethylcellulosen wurden mit der kombinierten Anlage aus Größenausschlusschromatographie, Vielwinkellaserlichtstreuphotometer und Konzentrationsdetektor vermessen. Dazu wurden die Proben in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid eingewogen und über vier Tage auf dem Schüttelapparat gelöst. Alle Proben zeigten eine gute Löslichkeit und wurden zur Probenaufbearbeitung anschließend 45 Minuten bei  $13.000 \text{ U}_{\text{Min}}$  zentrifugiert. Bei der Überführung in die Autosamplervials waren keine ungelösten Bestandteile zu erkennen. Die Messungen erfolgten über drei PL<sub>AQUA</sub>-Gel-Säulen. Die Daten wurden mit einem Brechungsindexinkrement von  $0,135 \text{ cm}^3/\text{g}$  aufgenommen und ausgewertet.

Es sollte festgestellt werden, inwieweit man die Einflüsse der Zellstoffabmischungen in den Messungen der kombinierten Anlage erfassen kann und welche Auswirkungen diese auf die Elution, die Molmassen- und Radienverteilungen haben. Zuerst wurde die erste Gruppe aus den Methylhydroxyethylcellulosen *MHEC1* bis *MHEC5* mit den Elutionsdiagrammen in den Abbildungen 112 bis 116 untersucht. Die Probe *MHEC1* bestand aus einer Zellstoffmischung von 37,5/25/37,5 ( $Z_1/Z_2/Z_3$ ). Im Elutionsdiagramm ist dieser Einfluss nur gering zu sehen und auch nur im hochmolekularen Bereich zwischen 16 und 18,5 ml Elutionsvolumen. Hier zeigen sowohl das Lichtstreusignal (---), als auch das Konzentrationssignal (—) eine schwach ausgeprägte Schulter (gewölbter) Verlauf. Eine weitere Auffälligkeit lässt sich nur im direkten Vergleich mit den beiden anderen Mischungen, der Probe *MHEC2* mit 25/50/25 und *MHEC3* mit 12,5/75/12,5, ersehen. Bei der Probe *MHEC1* ist das Konzentrationssignal im hochmolekularen Bereich am weitesten gewölbt und auch das Maximum ist am breitesten. Die Probe *MHEC2* zeigt einen sehr ähnlichen Verlauf der Signale. Die Signalbreite um die Maxima herum ist aber geringer. Bei den beiden Proben *MHEC1* und *MHEC2* ist ein Einfluss im niedermolekularen Bereich der beiden Signale nicht zu erkennen. Erst bei der Methylhydroxyethylcellulose *MHEC3* mit 12,5/75/12,5 ist ein leicht gewölbter Verlauf im Konzentrationssignal bei 22 bis 23 ml im niedermolekularen Bereich zu erkennen. Die schwach ausgeprägte Schulter im hochmolekularen Bereich der beiden Signale, die die beiden Proben *MHEC1* und *MHEC2* zeigen, ist hier nicht mehr zu erkennen. Eine Tendenz ist aus den Elutionsdiagrammen zu entnehmen, je höher der Anteil an  $Z_3$ , desto mehr ist das Maximum in Richtung der niedrigeren Molmassen bzw. niedrigeren Elutionsvolumina verschoben (*MHEC1*, 2, 3 und 5). Die Molmassenverläufe der drei Proben zeigen keine Auffälligkeiten in den Steigungen. Die Effekte der Mischung sind aus den reinen Elutionsdiagrammen nur schwer zu erkennen und nicht besonders aussagekräftig.

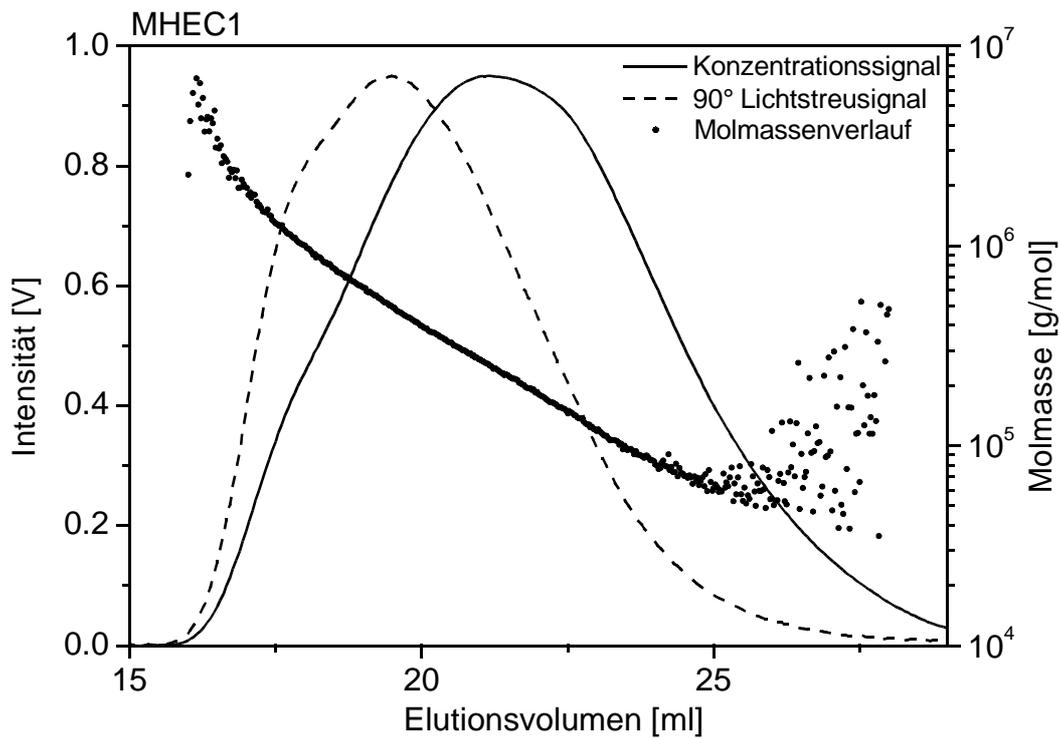


Abbildung 112: Elutionsdiagramm der Methylhydroxyethylcellulose MHEC1 in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

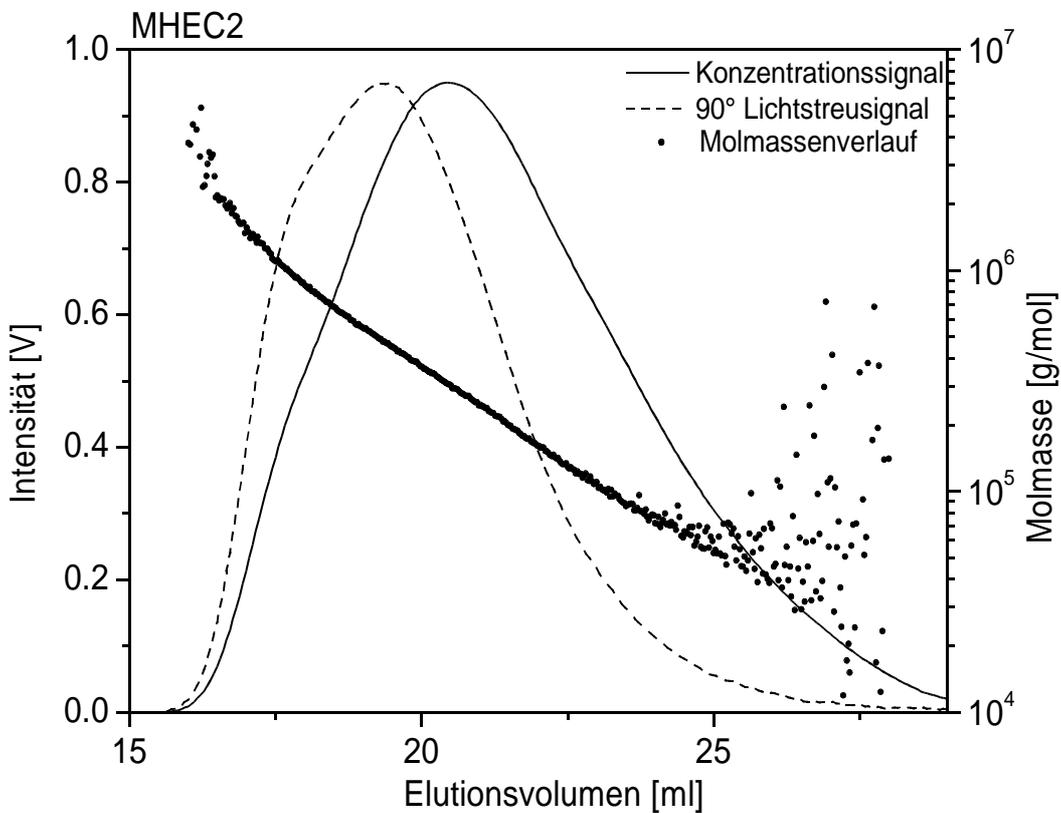


Abbildung 113: Elutionsdiagramm der Probe MHEC2 in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

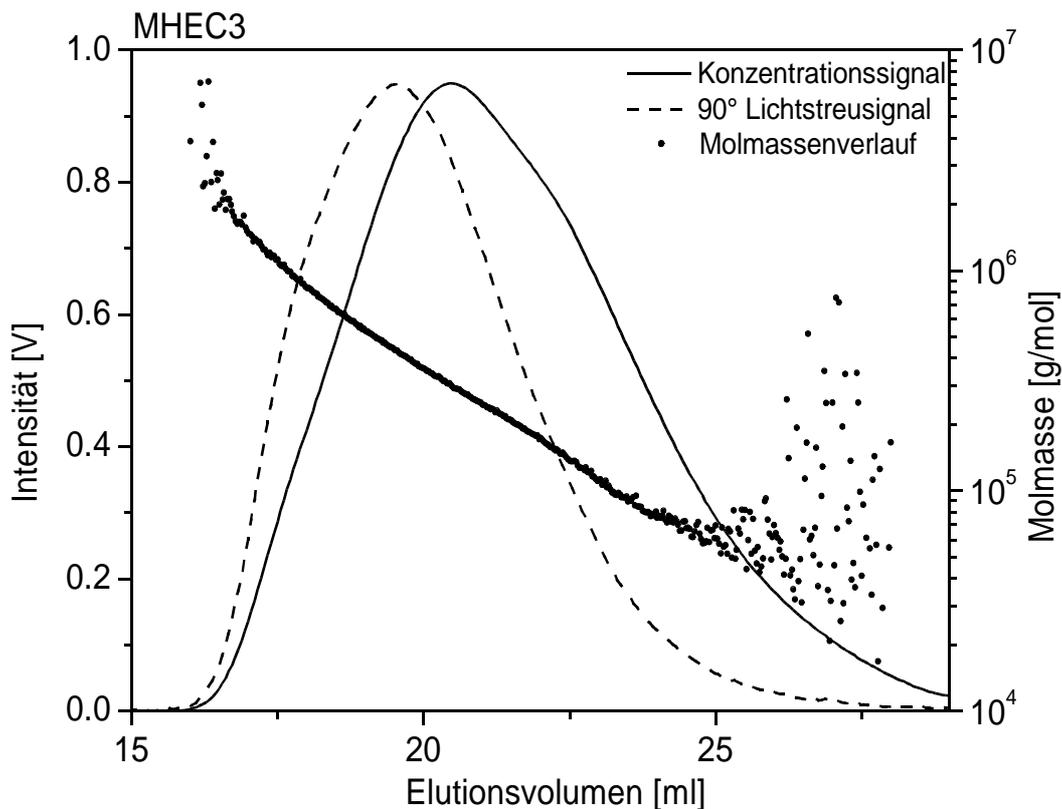


Abbildung 114: Elutionsdiagramm der Methylhydroxyethylcellulose MHEC3 in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C. Dargestellt sind das Lichtstreuungssignal (---), das Konzentrationssignal (—) und der Molmassenverlauf.

Die beiden anderen Methylhydroxyethylcellulosen MHEC4 und MHEC5 bestehen nicht mehr aus allen drei Zellstoffen, sondern nur noch aus einem bzw. zwei Zellstoffen. Die Probe MHEC4 besteht zu 100 % aus dem Zellstoff Z<sub>2</sub>. Das Elutionsdiagramm von MHEC4 ist Abbildung 115 wiedergegeben. Dies zeigt im Konzentrationssignal ein breites Maximum, welches in dieser Form nicht in den drei gemischten Proben MHEC1 bis MHEC3 zu detektieren war. Die Probe MHEC1 mit dem geringsten Z<sub>2</sub>-Anteil (25 %) zeigt ein ähnlich breites Konzentrationssignal. Dies wäre eigentlich von der Probe MHEC3 zu erwarten gewesen, die einen Anteil von 75 % Z<sub>2</sub> besitzt.

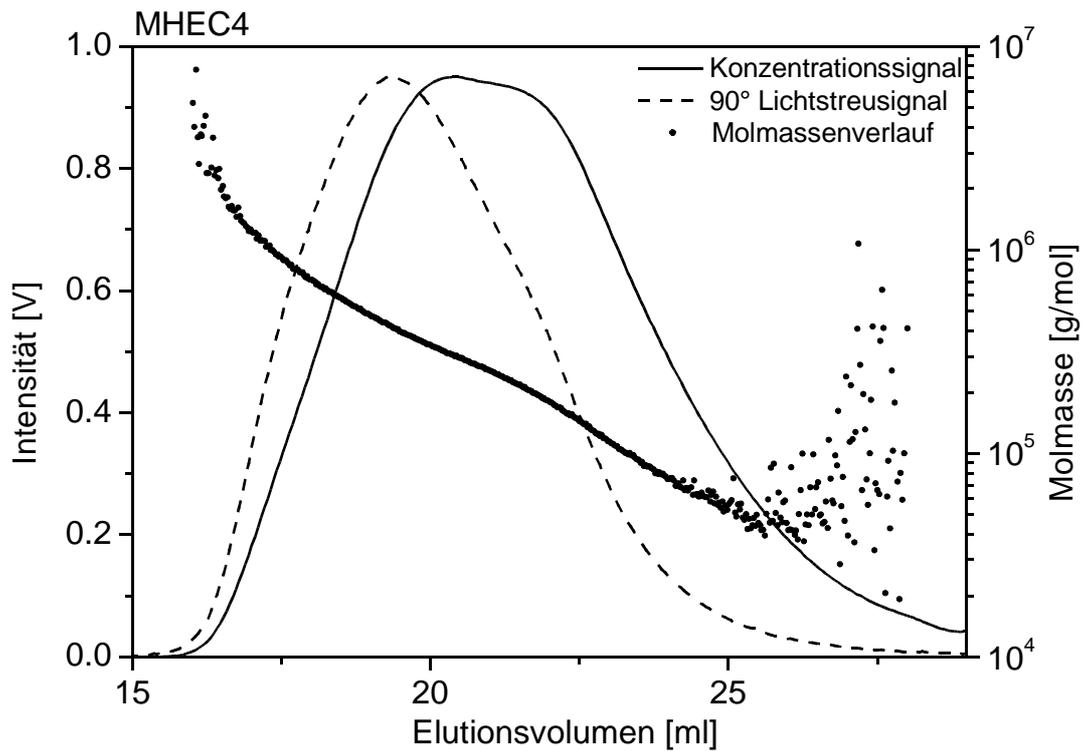


Abbildung 115: Elutionsdiagramm der Probe MHEC4 in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

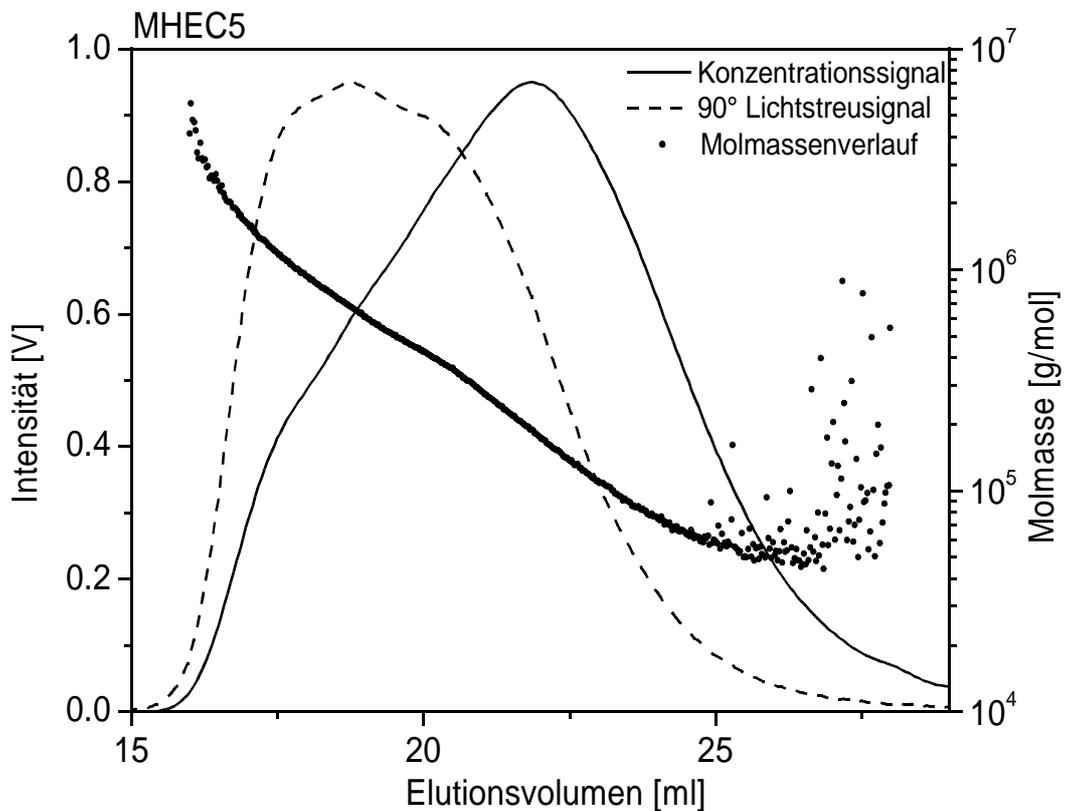


Abbildung 116: Elutionsdiagramm der Methylhydroxyethylcellulose MHEC5 in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

Die Methylhydroxyethylcellulose *MHEC5* ist in Abbildung 116 wiedergegeben und ist die einzige Probe ohne Beimischung von Zellstoff  $Z_2$ . Die Probe besteht zu einer Hälfte aus  $Z_1$  und zur anderen Hälfte aus  $Z_3$ . Das Elutionsdiagramm zeigt hier einen gewölbtes Konzentrationssignal, dessen Maximum im Vergleich zu den anderen Proben zu höherem Elutionsvolumen verschoben ist. Auch das Lichtstreuungssignal zeigt vor und nach dem Maximum eine Schulter. Die Messergebnisse sind in der Tabelle 46 zusammengefasst.

*Tabelle 46: Messergebnisse der SEC/MALLS/RI-Anlage für die Methylhydroxyethylcellulosen der ersten Gruppe (MHEC1 bis MHEC5) in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.*

<i>Probe</i>	$M_w$ [g/mol]	$M_z$ [g/mol]	$M_w/M_n$	$R_{Gz}$ [nm]	WF [wt %]	$c^*_{LS}$ [g/cm <sup>3</sup> ]
MHEC1	327.000	626.000	2,3	85	94	$6,98 * 10^{-5}$
MHEC2	335.000	604.000	2,6	82	98	$7,96 * 10^{-5}$
MHEC3	307.000	523.000	2,3	75	99	$9,53 * 10^{-5}$
MHEC4	297.000	485.000	2,1	71	99	$1,087 * 10^{-4}$
MHEC5	360.000	764.000	2,9	90	92	$6,06 * 10^{-5}$

Die gewichtsmittleren Molmassen der fünf Methylhydroxyethylcellulosen lagen im Bereich von 297.000 bis 360.000 g/mol. Dabei besitzt die Probe *MHEC4*, die nur aus dem Zellstoff  $Z_2$  besteht, die geringste Molmasse und die Probe *MHEC5* (50/50), die nur eine Mischung aus den Zellstoffen  $Z_1$  und  $Z_3$  sind, die größte. Die Mischungen aus den drei Zellstoffen  $Z_1$ ,  $Z_2$  und  $Z_3$ , die Proben *MHEC1* (37,5/25/37,5), *MHEC2* (25/50/25) und *MHEC3* (12,5/75/12,5) liegen dazwischen.

Generell kann man die Aussage treffen, dass je höher der Anteil an  $Z_1$ , desto höher ist die gewichtsmittlere Molmasse ( $MHEC5 > MHEC1 > MHEC2 > MHEC3 > MHEC4$ ). Zusätzlich zur gewichtsmittleren Molmasse ist auch noch die z-mittlere Molmasse angegeben, die besonders stark durch hochmolekulare Anteile beeinflusst wird. Die Schwankung der Werte für die gewichtsmittleren Molmasse betragen ca. 60.000 g/mol während die Werte für die z-mittleren Molmassen ca. 280.000 g/mol betragen. Bei der z-mittleren Molmasse zeigt sich der Einfluss der hochmolekularen Bestandteile stärker.

Die Werte der gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  lassen sich aber nicht mit den Daten der Viskosimetrie korrelieren. Zusätzlich zu den mittleren Molmassen soll auch noch die

Molmassenverteilung betrachtet werden. Die Auftragungen der Molmassenverteilungen für die Methylhydroxyethylcellulosen *MHEC1* bis *MHEC5* sind in der Abbildung 117 dargestellt. Als erstes fällt einem die Auftragung der Probe *MHEC5* auf, die eine Schulter im Verlauf nach dem Maximum zeigt. Hier ist neben dem Maximum bei 200.000 g/mol noch bei über 1.000.000 g/mol ein großer Anteil.

Je höher der Anteil an Zellstoff  $Z_2$  ist, um so schmaler wird die Molmassenverteilung. Wie man durch die gewichtsmittleren Molmassen und die Molmassenverteilungen sehen kann, zeigen die Mischungen aus drei unterschiedlichen Zellstoffen nur geringe Unterschiede, während *MHEC4* und *MHEC5* andere Charakteristika besitzen.

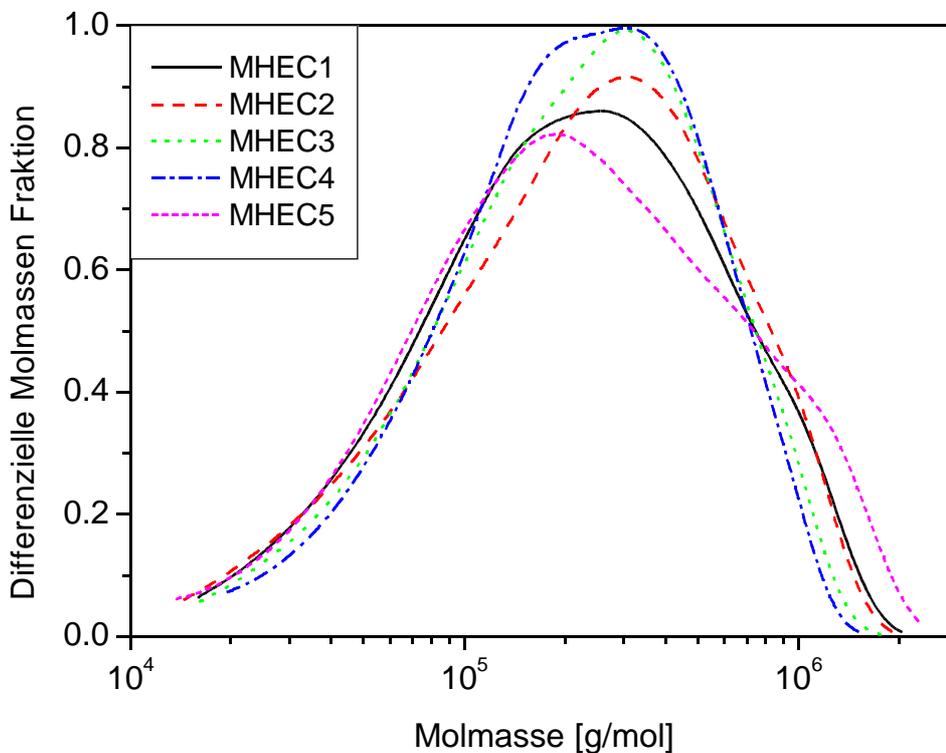


Abbildung 117: Differenzielle Molmassenverteilung der ersten Gruppe von Methylhydroxyethylcellulosen (*MHEC1* bis *MHEC5*) in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

Die Verteilung der Gyrationradien in Abbildung 118 zeigt einen ähnlichen Verlauf wie bei der Molmassenverteilung. Die Gyrationradien beginnen alle über 100 nm und enden unterhalb der Messgrenze von 20 nm.

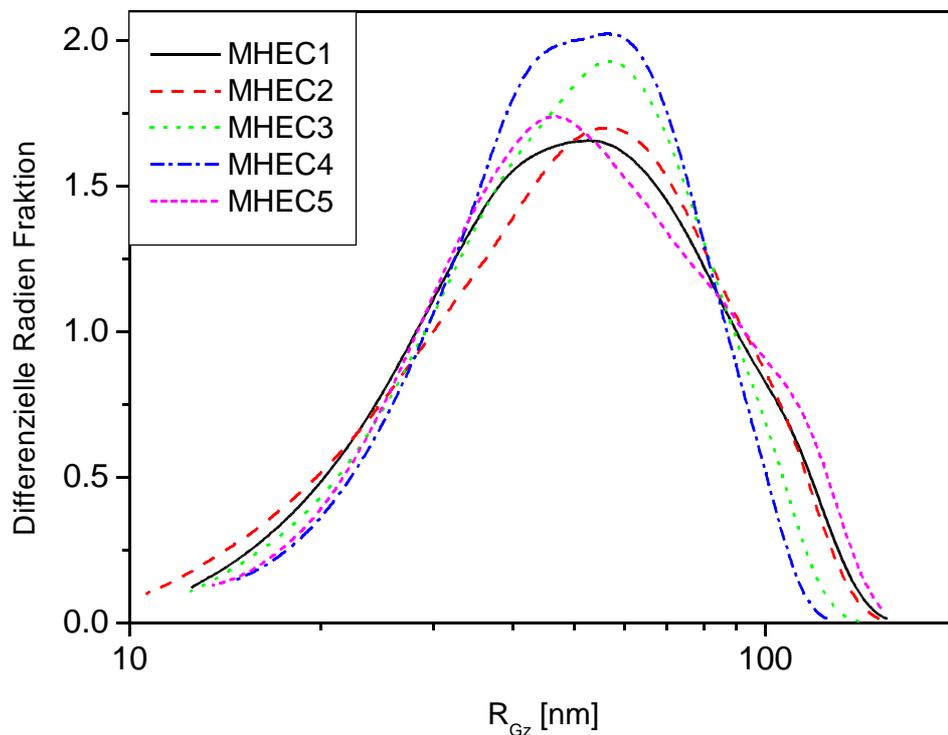


Abbildung 118: Differenzielle Radienverteilung der Gruppe 1 mit den Proben MHEC1 bis MHEC5 in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

Die Methylhydroxyethylcellulosen der zweiten Gruppe, MHEC6 bis MHEC10, wurden auf die gleiche Art aus den verschiedenen Zellstoffen abgemischt. Durch eine Variation in der Umsetzung wiesen diese einen höheren durchschnittlichen Substitutionsgrad  $DS$  und molaren Substitutionsgrad  $MS$  auf. Die Elutionsdiagramme der Methylhydroxyethylcellulosen MHEC6 (37,5/25/37,5), MHEC7 (25/50/25) und MHEC8 (12,5/75/12,5) zeigen kaum einen Unterschied zum Elutionsdiagramm der Probe MHEC9 (100 %  $Z_2$ ). Alle Elutionsdiagramme zeigen im Konzentrationssignal einen gewölbten Verlauf, d.h. Eine schwach ausgeprägte Schulter nach dem Maximum. Nur die Probe MHEC6 hat auch vor dem Maximum eine schwach ausgeprägte Schulter im Konzentrationssignal, die auch für die Probe MHEC10 charakteristisch ist.

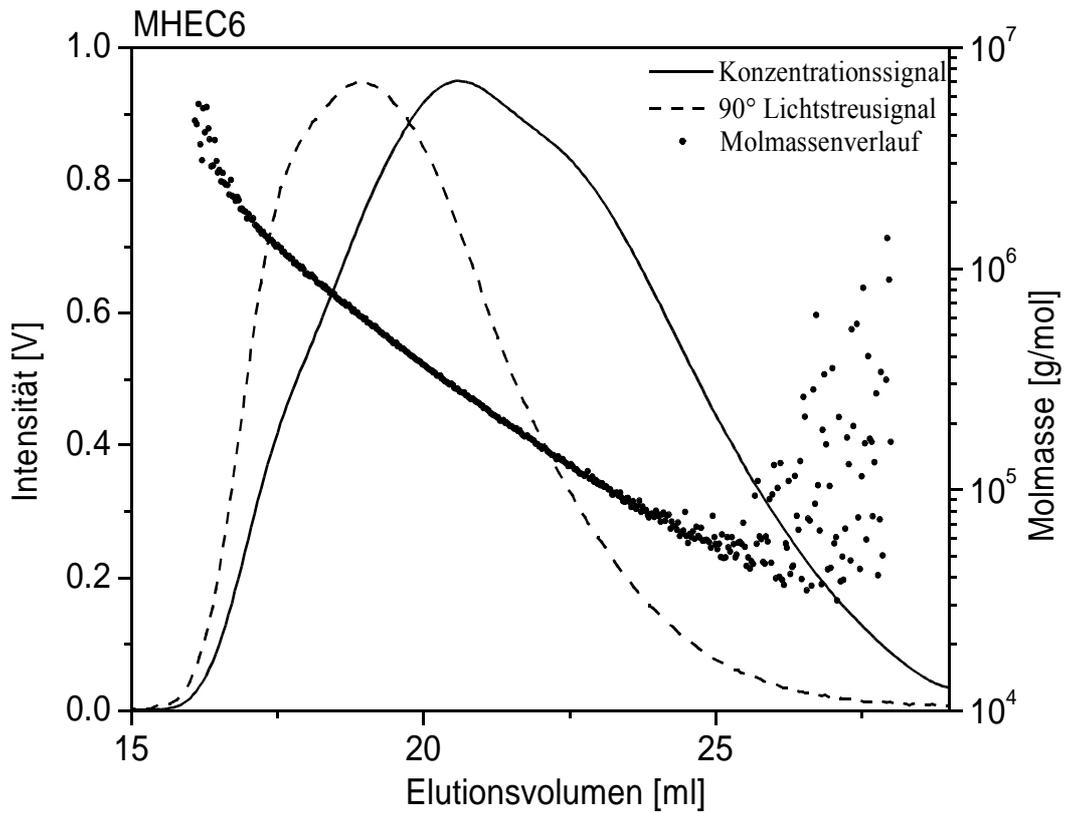


Abbildung 119: Elutionsdiagramm der Probe MHEC6 bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

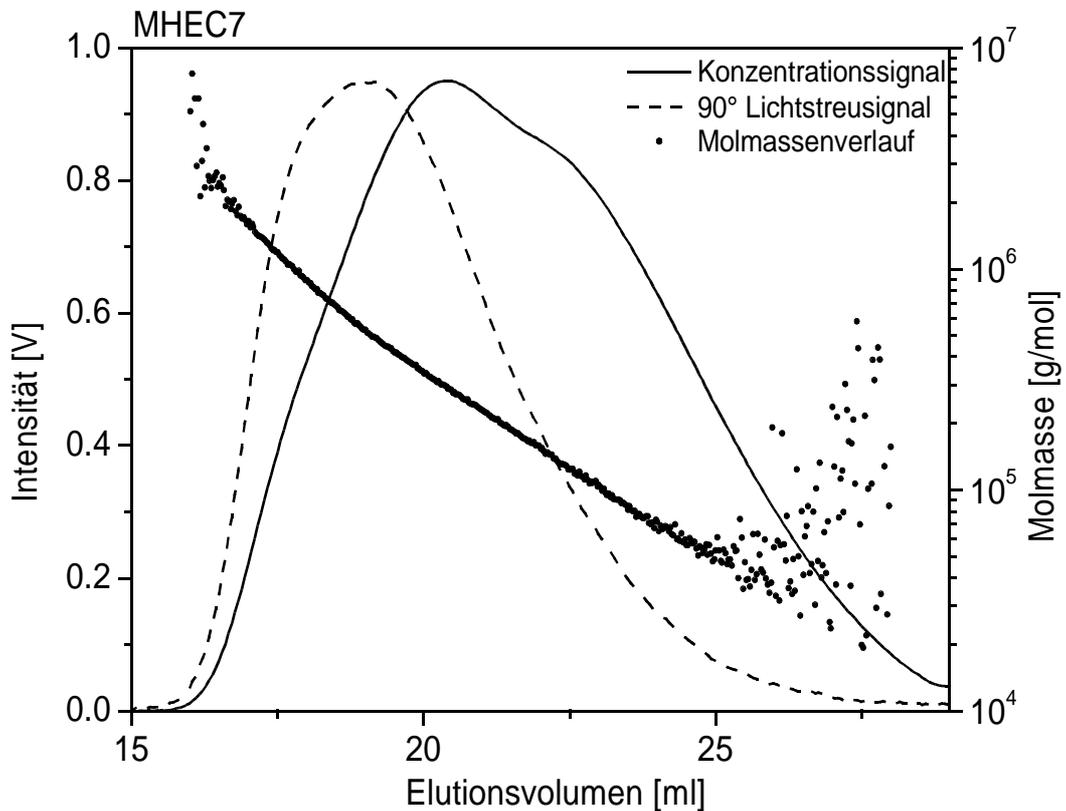


Abbildung 120: Elutionsdiagramm der Methylhydroxyethylcellulose MHEC7.

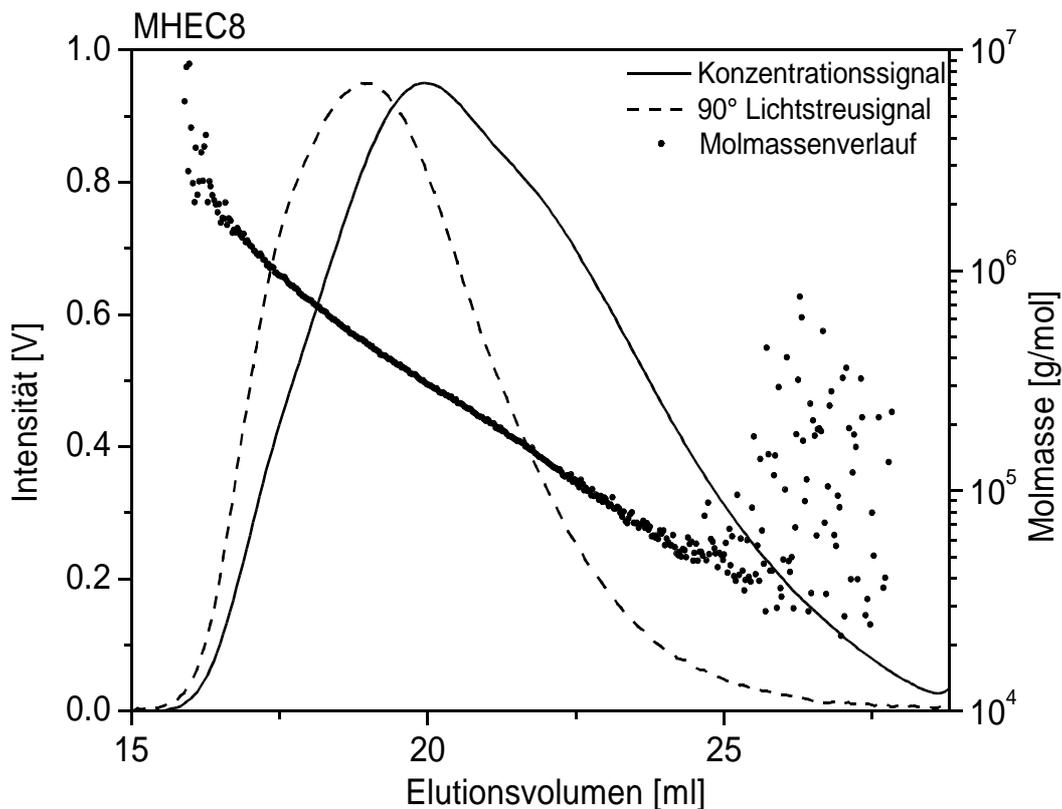


Abbildung 121: Elutionsdiagramm der Methylhydroxyethylcellulose MHEC8 in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C. Dargestellt sind das Lichtstreuungssignal (---), das Konzentrationssignal (—) und der Molmassenverlauf.

Ansonsten kann man den Elutionsdiagrammen der Methylhydroxyethylcellulosen MHEC6 bis MHEC9 keine Unterschiede entnehmen. Die Probe MHEC9 (Abbildung 122) die analog der Probe MHEC4 (Abbildung 115) zu 100 % aus dem Zellstoff Z<sub>2</sub> besteht, zeigt auch einen ähnlich breites Maximum im Konzentrationssignals. Die gewichtsmittleren Molmassen der beiden Proben MHEC9 und MHEC4 sind mit 299.000 g/mol und 297.000 g/mol fast identisch und ist für die höher substituierte MHEC9 geringfügig größer.

Im Gegensatz dazu sieht die Probe MHEC10 im Vergleich mit der Probe MHEC5, die beide nur aus Zellstoff Z<sub>1</sub> und Z<sub>2</sub> (50/50) bestehen, unterschiedlich im Verlauf der beiden Signale aus. Auch die Differenz der gewichtsmittleren Molmasse ist etwas größer mit MHEC10 = 341.000 g/mol und MHEC5 = 360.000 g/mol. Normalerweise müsste das höher substituierte MHEC10 eine höhere Molmasse besitzen. Bei dem Vergleich der Wiederfindungsraten zwischen den beiden Gruppen fällt auf, dass die Wiederfindung in der zweiten, höher substituierten Gruppe MHEC6 bis MHEC10 niedriger sind als in der Ersten.

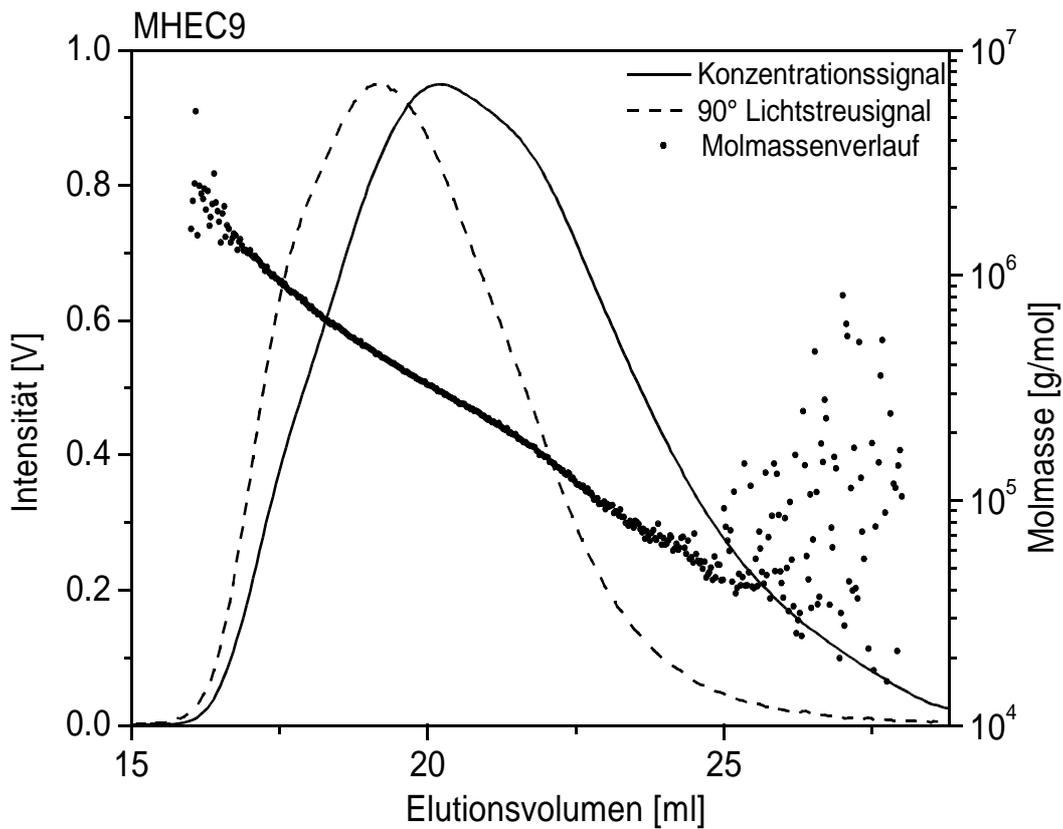


Abbildung 122: Elutionsdiagramm der Methylhydroxyethylcellulose MHEC9 bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

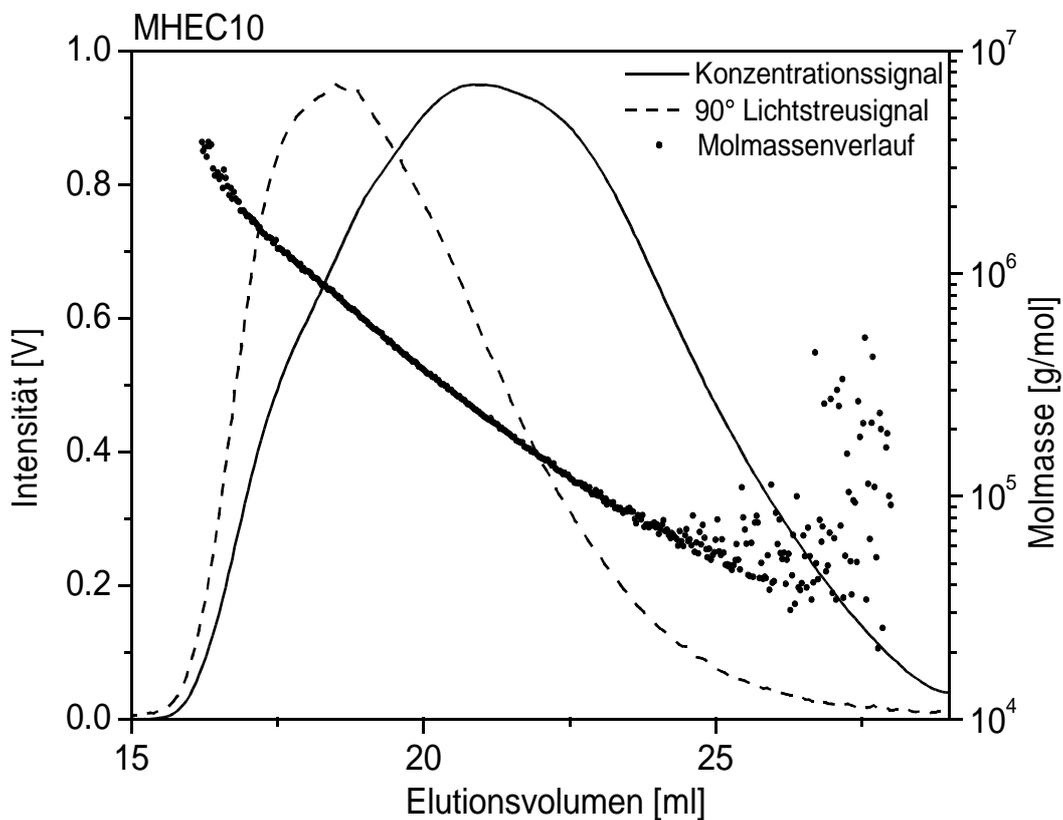


Abbildung 123: Elutionsdiagramm der Methylhydroxyethylcellulose MHEC10.

Die ermittelten molekularen Daten der Methylhydroxyethylcellulosen *MHEC6* bis *MHEC10* sind in der Tabelle 47 aufgeführt. Die gewichtsmittleren Molmassen lagen zwischen 294.000 g/mol und 341.000 g/mol. Im Unterschied zur ersten Gruppe fällt die gewichtsmittlere Molmasse nicht mit abnehmendem  $Z_1$ -Anteil, während dieses für die Proben *MHEC10* (50 %  $Z_1$ ) und *MHEC6* (37,5 %  $Z_1$ ) zutrifft, für die Proben *MHEC7* und *MHEC8* jedoch nicht. Diese beiden liegen mit der gewichtsmittleren Molmasse sogar unterhalb der Probe *MHEC9* (100 %  $Z_2$ ). Dies lässt sich nur mit der geringeren Wiederfindungsrate der zweiten Gruppe erklären. Für die z-mittlere Molmasse stimmt die Tendenz mit der ersten Gruppe überein.

Tabelle 47: Messergebnisse der SEC/MALLS/RI-Anlage für die Methylhydroxyethylcellulosen der zweiten Gruppe (*MHEC6* bis *MHEC10*) bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

<i>Probe</i>	$M_w$ [g/mol]	$M_z$ [g/mol]	$M_w/M_n$	$R_{Gz}$ [nm]	WF [wt %]	$c^*_{LS}$ [g/ml]
<i>MHEC6</i>	323.000	655.000	2,5	83	79	$5,11 * 10^{-5}$
<i>MHEC7</i>	294.000	577.000	2,9	76	72	$8,77 * 10^{-5}$
<i>MHEC8</i>	298.000	543.000	2,7	75	87	$9,25 * 10^{-5}$
<i>MHEC9</i>	299.000	504.000	2,3	72	87	$1,049 * 10^{-4}$
<i>MHEC10</i>	341.000	738.000	3,5	91	74	$5,93 * 10^{-5}$

Die Gyrationradien  $R_{Gz}$  sind im Gruppenvergleich der einzelnen Abmischungen (z.B. *MHEC1* mit *MHEC6*) ähnlich und variieren nur um maximal 2 nm, nur bei den Proben *MHEC2* und *MHEC7* ist ein Unterschied von 6 nm vorhanden. Die Probe *MHEC7* hatte mit 72 % die schlechteste Wiederfindungsrate im Probenfeld. Auch in der zweiten Gruppe konnten die viskosimetrischen Daten nicht mit den gewichtsmittleren Molmassen in Übereinstimmung gebracht werden.

Die differenziellen Molmassenverteilungen der zweiten Gruppe, mit den Methylhydroxyethylcellulosen *MHEC6* bis *MHEC10*, sind in der Abbildung 124 aufgetragen. Es ist zu sehen, dass die Probe *MHEC10* die breiteste Verteilung mit dem breitesten Maximum besitzt. Mit steigendem  $Z_2$ -Anteil wird die Verteilung schmäler. Die Verteilungen der Gyrationradien in Abbildung 125 weist einen ähnlichen Verlauf auf.

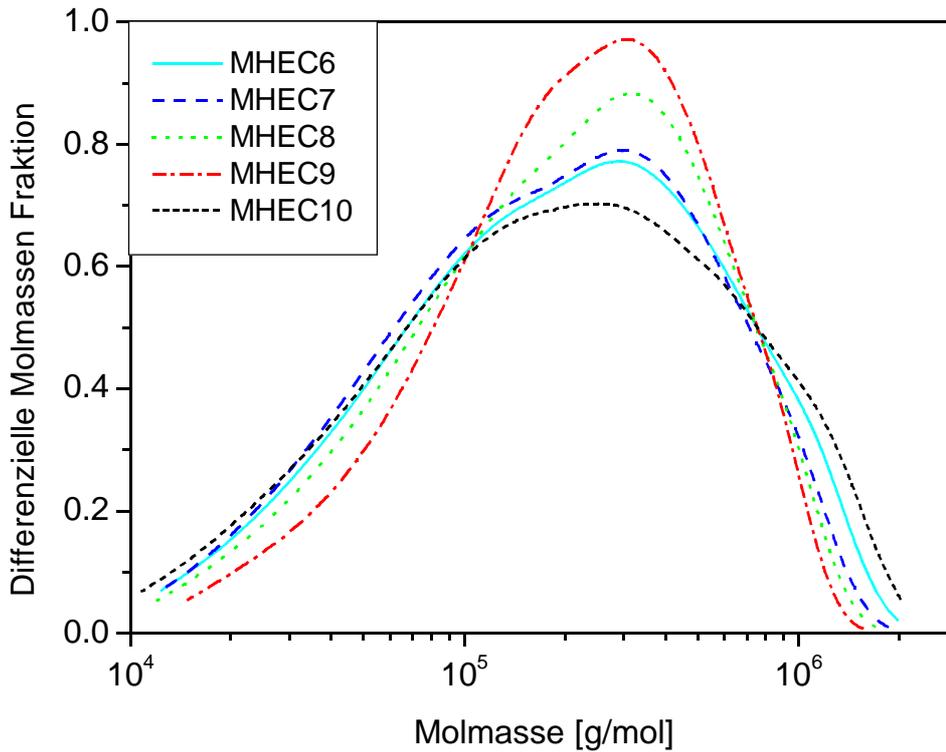


Abbildung 124: Differenzieller Molmassenverlauf der Proben MHEC6 bis MHEC10 bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

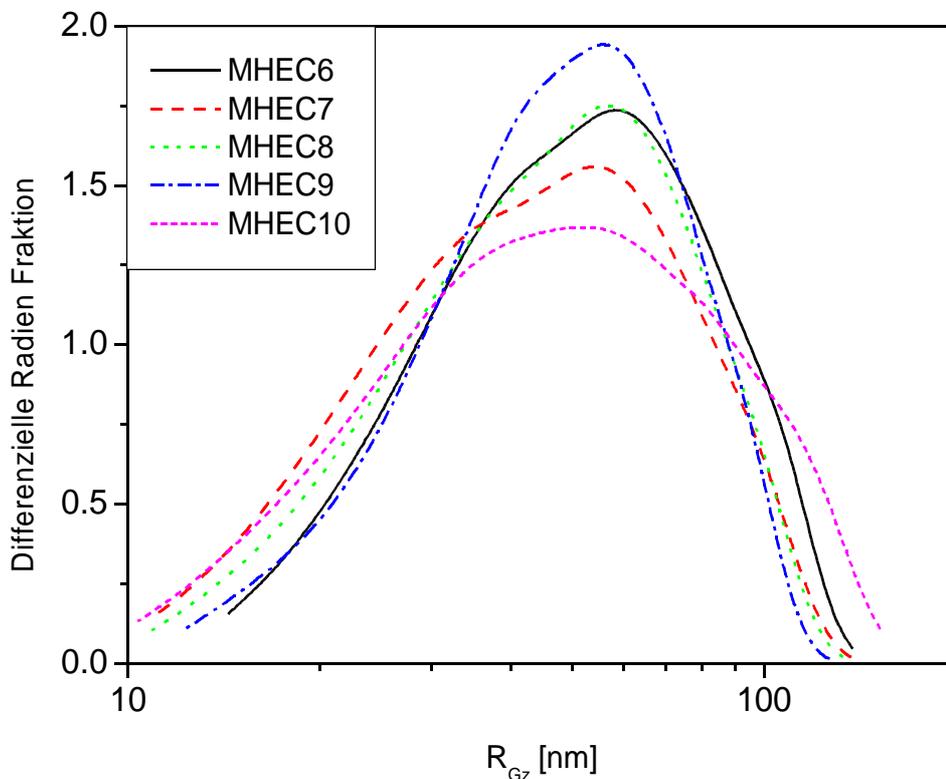


Abbildung 125: Differenzielle Radienverteilung der Proben MHEC6 bis MHEC10 bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

---

Durch das Abmischen von Methylhydroxyethylcellulosen aus verschiedenen Zellstoffen konnten innerhalb der zwei Gruppen Produkte mit ähnlichen gewichtsmittleren Molmassen und ähnlichen Staudingerindizes mit einer Variation in der Verteilungsbreite hergestellt werden. Die Abmischung war nicht direkt aus den Elutionsdiagrammen ersichtlich, da hier keine direkten Bimodalitäten mit getrennten Peaks oder ähnliches auftraten. Bei den Molmassenverteilungen können nur im direkten Vergleich in der Gruppe die beiden Proben *MHEC5* und *MHEC10* als auffällig eingestuft werden.

## 4.9 Lambda-Carrageenane

Unter dem Begriff der Carrageenane werden die Salze von linearen Galaktose-Polysacchariden marinen Ursprungs zusammengefasst. Sie sind ionische Heteropolysaccharide. Als Rohstoffquelle dienen großwüchsige Rotalgen der Gattungen *Chonduras*, *Euचेuma*, *Gigartina*, *Hypnea* und *Iridea* [166]. Carrageenane werden mittels Heißwasserextraktion unter Überdruck bei 130°C in leicht alkalischem Milieu gewonnen. Nach der Heißwasserextraktion liegt ein Gemisch der verschiedenen Typen  $\kappa$ -,  $\iota$ - und  $\lambda$ -Carrageenanen vor. Durch eine fraktionierte Fällung (*KCl*-Verfahren, Alkohol-Verfahren) können die einzelnen Carrageenan-Typen erhalten werden.

Das Haupteinsatzgebiet der Carrageenane ist die Lebensmittelindustrie, wo sie seit 1991 als *E407* lebensmittelrechtlich zugelassen sind. Dabei werden sowohl die viskositätserhöhenden, als auch Gel bildenden, sowie emulgierenden und auch stabilisierenden Eigenschaften genutzt und bieten einen breiten Einsatzbereich. Zusätzlich werden sie noch für Farben, Salbenzusätze und Suspendierhilfen für Schleif- und Schmiermittel verwendet [8]. Die hier untersuchten Carrageenane gehörten zum Typ der  $\lambda$ -Carrageenane. Dessen idealisierte Monomereinheit besteht aus  $\beta$ -D-Galaktose-2-sulfat und  $\alpha$ -D-Galaktose-2,6-disulfat, die in der Abbildung 126 wiedergegeben ist. Es handelt sich um einen dimeren Grundbaustein, in dem ein  $\beta$ -D-Galaktose-2-sulfat in der  ${}^4C_1$  Konformation 1,4-glykosidisch an ein  $\alpha$ -D-Galaktose-2,6-disulfat in der  ${}^1C_4$  Konformation gebunden ist.

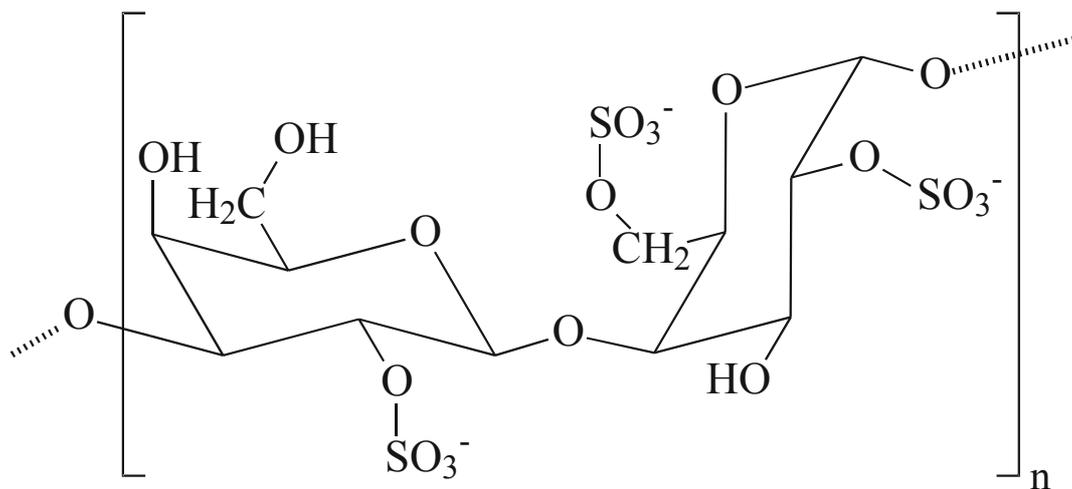


Abbildung 126: Strukturformel der Monomereinheit des  $\lambda$ -Carrageenans.

[166] Voragen, A. C. J., Pilnik, W., Alginates, *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*, 5<sup>th</sup> Edition, Volume A25, VCH Weinheim, **1994**, 40

[8] *CD Römpp Chemie Lexikon*, Thieme Verlag, Stuttgart, **1995**

Zur Ladungskompensation sind vorwiegend die Gegenionen  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  und  $\text{NH}_4^+$  vorhanden, wobei niemals nur eine einzelne Ionensorte auftritt. Die  $\lambda$ -Carrageenane zeichnen sich durch ihre gute Kaltwasserlöslichkeit und durch ihre ausschließlich viskositätssteigernden (nicht gelbildenden) Eigenschaften aus.

Die  $\lambda$ -Carrageenane wurden von den Firmen Sigma und von SKW bezogen. Der Trockengehalt wurde mittels Gefriertrocknung bis zur Massenkonstanz bestimmt, dabei ergab sich für *LC1* ein Trockengehalt von 93,7 wt% und für *LC2* von 96,3 wt%. Beide Carrageenane wurden in 0,1 M  $\text{NaNO}_3$ -Lösung mit 200 ppm  $\text{NaN}_3$  bei 25°C in einem Ubbelohde Kapillarviskosimeter vermessen. Dazu wurde von beiden jeweils eine Stammlösung mit einer Konzentration von ca.  $8,7 \cdot 10^{-4}$  g/ml angesetzt, aus der jeweils eine Verdünnungsreihe mit 9 unterschiedlichen Konzentrationen hergestellt wurde. Insgesamt wurde von beiden  $\lambda$ -Carrageenanen 10 Messlösungen im Bereich von  $8,7 \cdot 10^{-4}$  bis  $8,9 \cdot 10^{-5}$  g/ml vermessen.

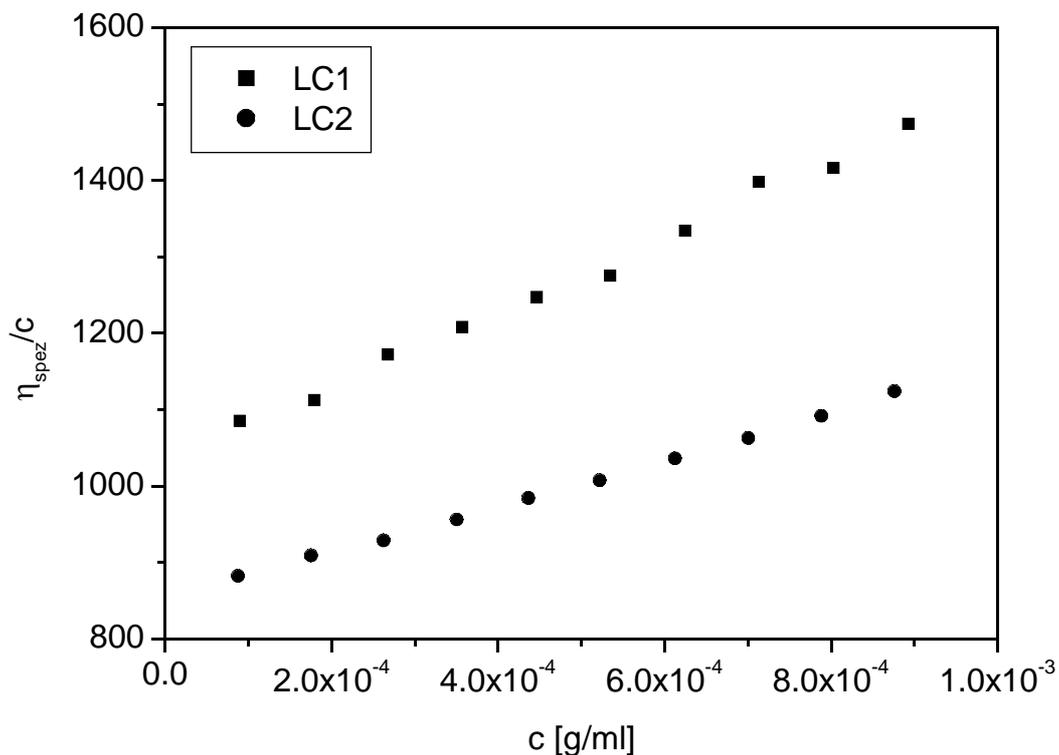


Abbildung 127: Auftragung der viskosimetrischen Daten der beiden  $\lambda$ -Carrageenane in einem Huggins-Plot zur Ermittlung der Staudingerindizes  $[\eta]$

In der Abbildung 127 sind die beiden Konzentrationsreihen der  $\lambda$ -Carrageenane *LC1* und *LC2* in einem Huggins-Plot aufgetragen. Die beiden  $\lambda$ -Carrageenane unterscheiden sich mit

1033 cm<sup>3</sup>/g zu 851 cm<sup>3</sup>/g in ihrem Staudingerindex voneinander. Aus den viskosimetrischen Daten wurde die kritische Polymerkonzentration  $c^*_{[\eta]}$  für die beiden Proben berechnet. Die Werte sind in der Tabelle 48 für die beiden  $\lambda$ -Carrageenane aufgeführt.

*Tabelle 48: Die intrinsischen Viskositäten  $[\eta]$  und die kritischen Polymerkonzentrationen  $c^*_{[\eta]}$  der beiden  $\lambda$ -Carrageenane bestimmt in 0,1 M Natriumnitratlösung bei 25°C.*

<b><math>\lambda</math>-Carrageenan</b>	<b>LC1</b>	<b>LC2</b>
$[\eta]$ [cm <sup>3</sup> /g]	1033	851
$c^*_{[\eta]}$ [g/cm <sup>3</sup> ]	2,4*10 <sup>-3</sup>	2,9*10 <sup>-3</sup>

Die beiden  $\lambda$ -Carrageenane wurden aufgrund der guten Kaltwasserlöslichkeit bei Raumtemperatur in 0,1 M NaNO<sub>3</sub>-Lösung mit 200 ppm NaN<sub>3</sub> gelöst und mittels der kombinierten Anlage SEC/MALLS/RI vermessen. Die Lösungen waren absolut klar und ohne erkennbare, ungelöste Bestandteile. Die Elutionsdiagramme der beiden  $\lambda$ -Carrageenane LC1 und LC2 sind in den Abbildungen 128 und 129 dargestellt. Beide zeigen, obwohl von unterschiedlichen Herstellern bezogen, eine Schulter im hochmolekularen Bereich, die bei der Probe LC1 etwas ausgeprägter war. Hier liegen sehr hochmolekulare Anteile im Molmassenbereich um 1\*10<sup>7</sup> g/mol vor, der bei beiden Proben aber nur einen Anteil von weniger als 0,5 % ausmachte. Der niedermolekulare Bereich fällt bei beiden  $\lambda$ -Carrageenanen nicht unter 100.000 g/mol, was auf den Gewinnungsprozess mit fraktionierter Fällung und Waschen zurückzuführen ist.

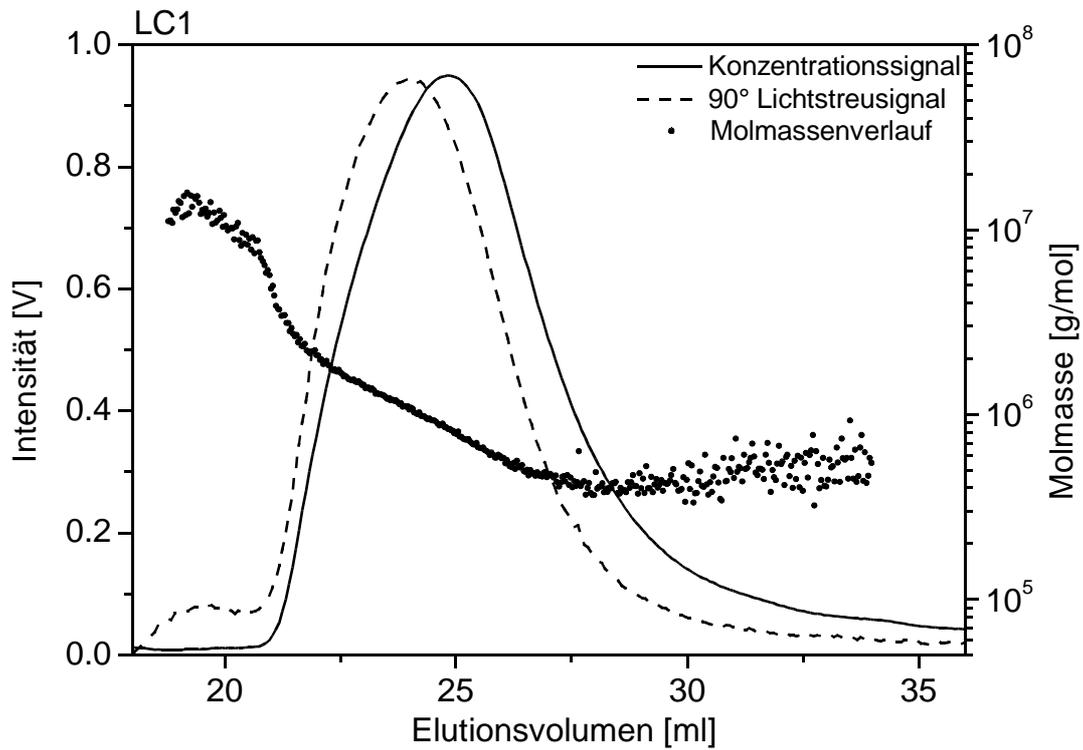


Abbildung 128: Elutionsdiagramm des  $\lambda$ -Carrageenans LC1 bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

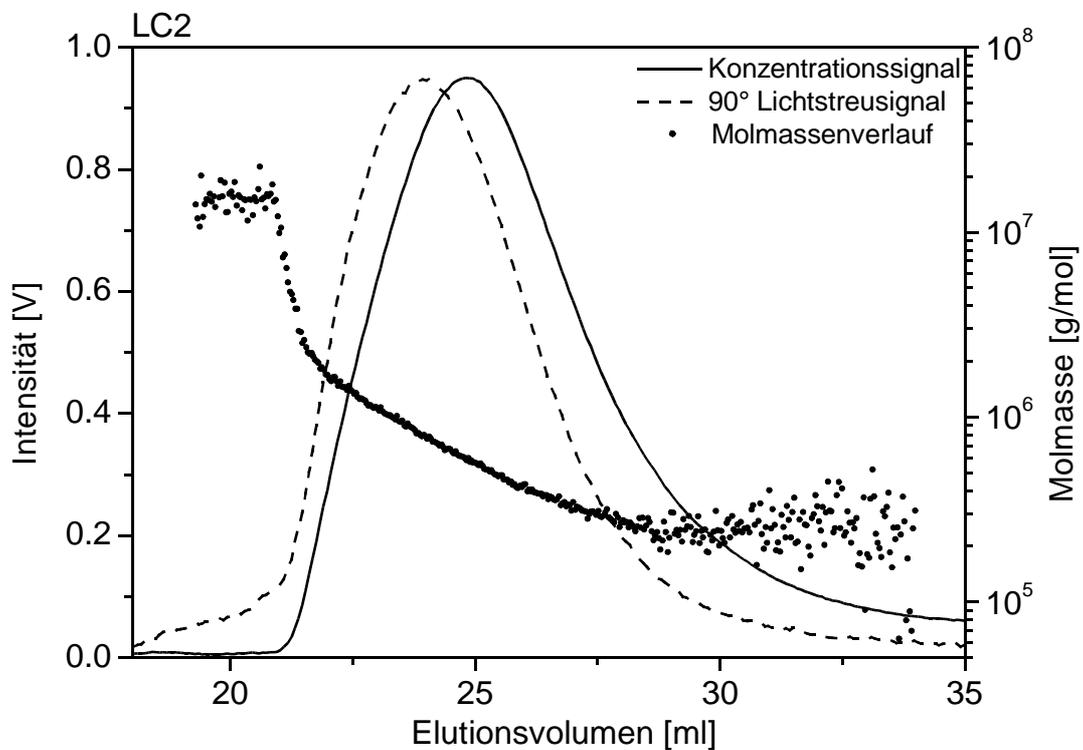


Abbildung 129: Elutionsdiagramm der Probe LC2 bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

Der direkte Vergleich der beiden  $\lambda$ -Carrageenane ist in Abbildung 130 aufgezeigt. Wie bereits aus den viskosimetrischen Untersuchungen hervorgegangen war, ist die Probe *LC1* durch einen größeren Anteil an hochmolekularen Polymermolekülen charakterisiert. Außerdem liegt die niedermolekulare Flanke bei der Probe *LC2* unterhalb der von der Probe *LC1*. Dies spiegelt sich auch deutlich in der gewichtsmittleren Molmasse von 800.000 g/mol bei *LC1* im Gegensatz zu 578.000 g/mol bei *LC2* wieder.

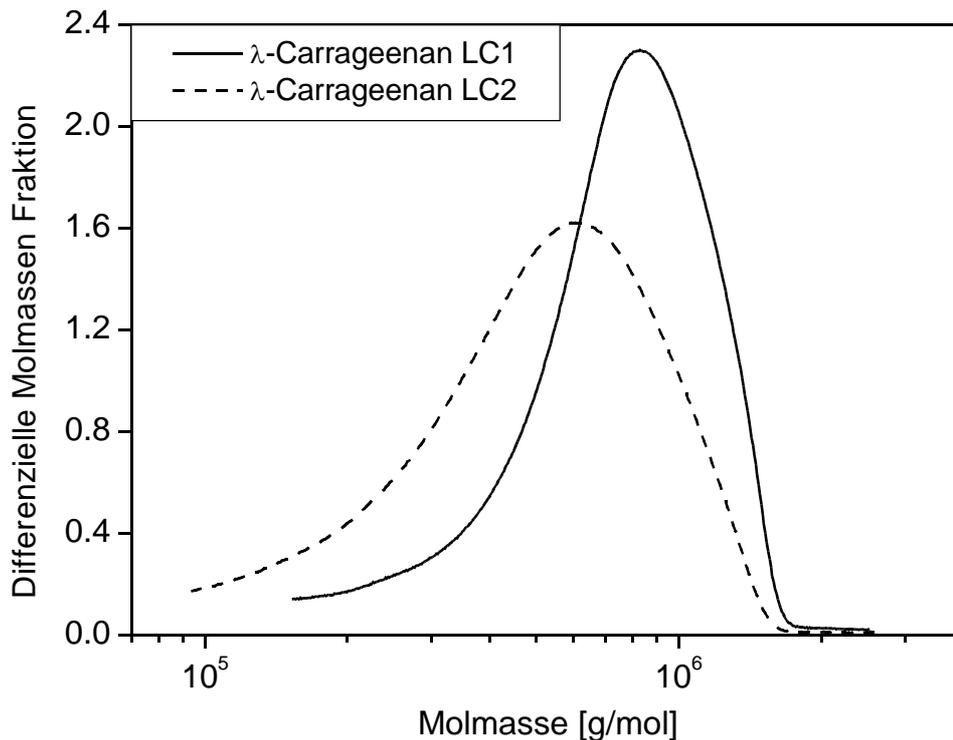


Abbildung 130: Differenzielle Molmassenverteilung der beiden  $\lambda$ -Carrageenane *LC1* und *LC2* bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

Der Vergleich der kritischen Polymerkonzentrationen der Viskosimetrie  $c^*_{[\eta]}$  aus der Tabelle 48 und der kritischen Polymerkonzentration der kombinierten Anlage  $c^*_{LS}$  in der Tabelle 49 zeigt einen Faktor von 12 zwischen den Werten für die einzelnen  $\lambda$ -Carrageenane. Zur Erstellung einer Struktur-Eigenschafts-Beziehung wurde die größere der beiden Proben, das  $\lambda$ -Carrageenan *LC1*, mittels Ultraschall degradiert. Es wurden zwei degradierte Proben hergestellt, einmal mit 10 Minuten und einmal mit 20 Minuten Ultraschalleinwirkung. Die Elutionsdiagramme sind in den Abbildungen 131 und 132 dargestellt. Man kann erkennen, dass die hochmolekulare Flanke der Ausgangsprobe *LC1* in Abbildung 128 bei 20 ml Elutionsvolumen schon nach 10 Minuten Ultraschalldegradation verschwunden ist.

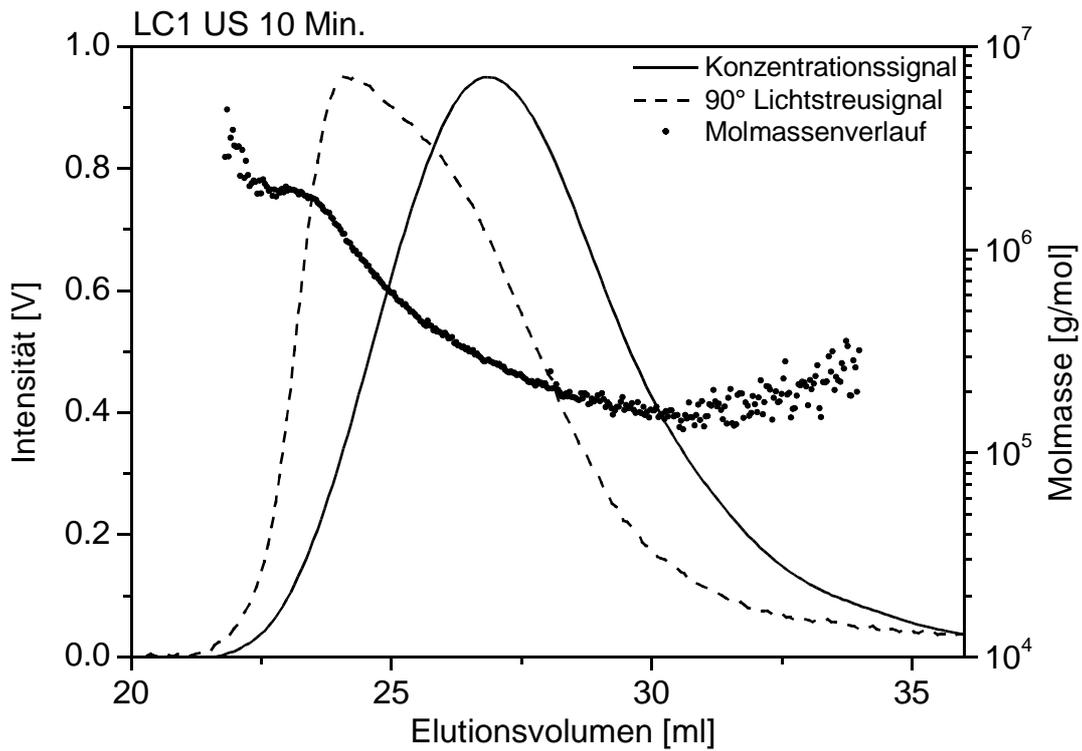


Abbildung 131: Elutionsdiagramm der für 10 Minuten ultraschalldegradierten Probe LC1 US 10 bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

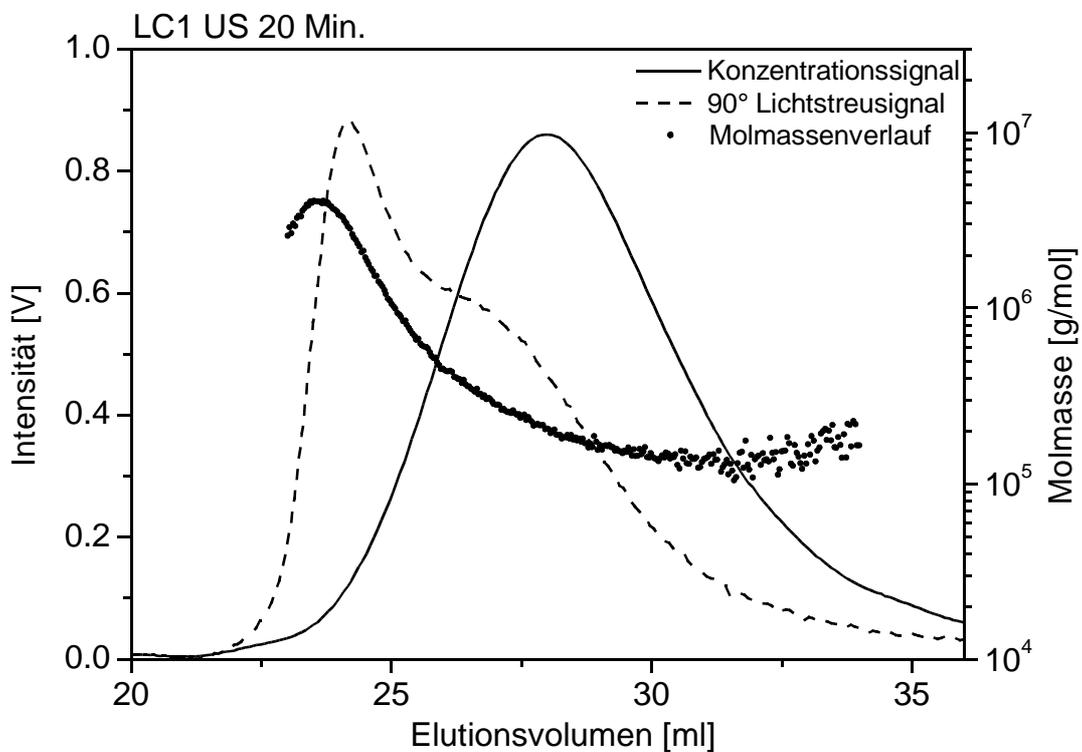


Abbildung 132: Elutionsdiagramm der für 20 Minuten ultraschalldegradierten Probe LC1 US 20 bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

Während das Maximum im Lichtstreusignal der beiden ultraschalldegradierten Proben sich im Vergleich zur Ausgangsprobe *LC1* nicht verändert, entsteht bei der Probe mit 10 Minuten in Abbildung 131 eine kleine Schulter bei 26 ml Elutionsvolumen, die sich bei der Probe mit 20 Minuten in Abbildung 132 stärker ausprägt. Hier sind hochmolekulare Anteile der Ausgangsprobe vorhanden, die noch nicht degradiert wurden. Dafür sind die Anteile aus dem mittelmolekularen Bereich stärker degradiert worden, weshalb es zu solch einem Signalverlauf kam. Dies ist auch an dem Polymolekularitätsindex  $M_w/M_n$  zu ersehen, die sehr eng verteilte Ausgangsprobe *LC1* verbreitert sich mit der Degradationszeit. In der Abbildung 133 sind die differenziellen Molmassenverteilungen der beiden ultraschalldegradierten Proben *LC1 US 10* und *LC1 US 20* zusammen mit der Ausgangsprobe *LC1* aufgetragen. Hieraus ist ersichtlich, dass die beiden degradierten Proben bis in den Ausgangsbereich der hochmolekularen Flanke hineinragen, sich aber das Maximum mit fortlaufender Beschallungszeit zu niedrigeren Molmassen verschiebt. Auch die niedermolekulare Flanke verschiebt sich mit zunehmender Beschallungszeit in niedermolekulare Bereiche. Man kann nur vermuten, dass aufgrund des Gewinnungsverfahrens, nämlich durch die fraktionierte Fällung und das Waschen ein relativ eng verteiltes Produkt entstanden ist.

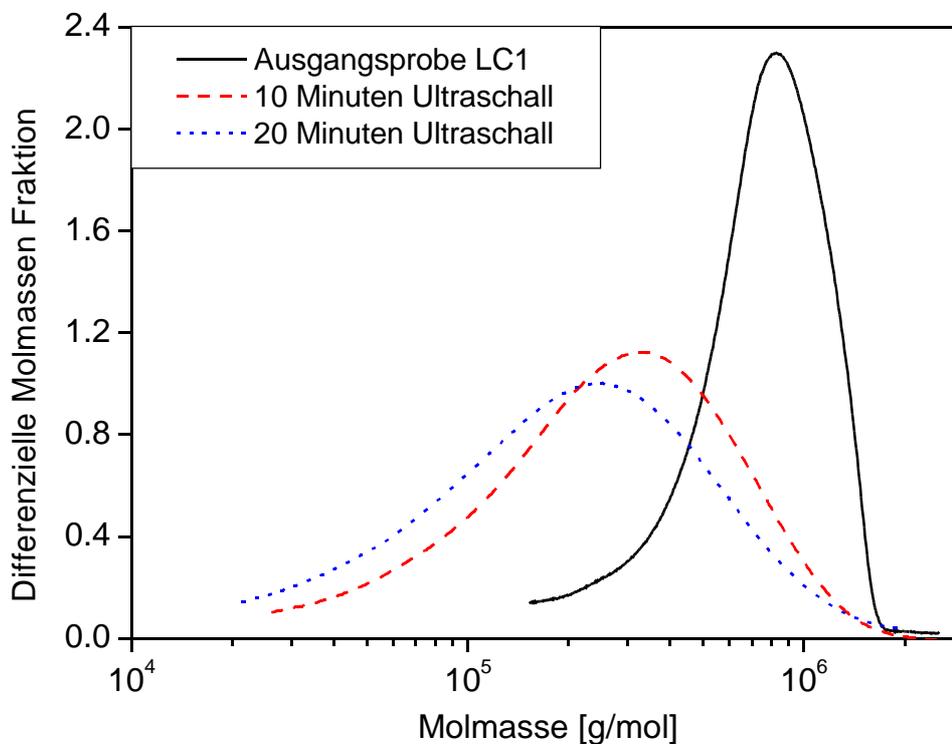


Abbildung 133: Die differenzielle Molmassenverteilung für die Ausgangsprobe *LC1* und den beiden ultraschalldegradierten Proben *LC1 US 10* und *LC1 US 20* bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid.

Die Messdaten der kombinierten Anlage von den  $\lambda$ -Carrageenanen sind in der Tabelle 49 aufgeführt. Neben der gewichtsmittleren Molmasse  $M_w$  ist die Verteilungsbreite  $M_w/M_n$ , der Gyrationradius  $R_{Gz}$  und die kritische Polymerkonzentration der Lichtstreuung  $c^*_{LS}$  angegeben.

*Tabelle 49: Messwerte der kombinierten Anlage SEC/MALLS/RI der beiden  $\lambda$ -Carrageenane bei 25°C in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid mit den berechneten kritischen Polymerkonzentrationen.*

$\lambda$ -Carrageenan	$M_w$ [g/mol]	$M_w/M_n$	$R_{Gz}$ [nm]	WF [wt %]	$c^*_{LS}$ [g/cm <sup>3</sup> ]
LC1	800.000	1,8	76	84	$2,4 \cdot 10^{-4}$
LC2	578.000	1,6	70	74	$2,2 \cdot 10^{-4}$
LC1 US 10	348.000	2,0	48	80	$4,1 \cdot 10^{-4}$
LC1 US 20	290.000	2,3	44	76	$4,5 \cdot 10^{-4}$

Die Wiederfindungsrate ist nur mit dem Trockengehalt der Proben berechnet worden. Die tatsächliche Wiederfindungsrate liegt aufgrund des Salzgehalts der  $\lambda$ -Carrageenane höher. Aus den Daten der beiden  $\lambda$ -Carrageenane LC1 und LC2, sowie den beiden ultraschall-degradierten Proben LC1 US 10 und LC1 US 20 wurde eine Struktur-Eigenschafts-Beziehung erstellt. Die Koeffizienten und die Exponenten der Struktur-Eigenschafts-Beziehungen sind in Tabelle 50 aufgelistet.

*Tabelle 50:  $R_G$ - $M$ -Beziehung für  $\lambda$ -Carrageenane bei 25°C in 0,1 M NaNO<sub>3</sub>-Lösung.*

R <sub>G</sub> -M-Beziehung	
K <sub>RG</sub>	$\nu$
$3,221 \cdot 10^{-2}$	0,57

Der Aufweitungsparameter  $\nu$ , welcher der Exponent der  $R_G$ - $M$ -Beziehung ist, sagt etwas über die Lösungsstruktur aus. Mit einem Aufweitungsparameter von 0,57 liegt ein aufgeweiteter Knäuel vor, was aufgrund der gleichartigen Ladungen im Polymer zu erwarten war.

## 5 Fazit und Ausblick

Als nachwachsende Rohstoffe besitzen Polysaccharide und deren Derivate eine komplexe Struktur, die eine genaue Charakterisierung benötigt, da ihre Eigenschaften stark mit der Rohstoffquelle und der chemischen Modifikation variieren. Die Eigenschaften von Polymeren in Lösung werden maßgeblich von der Molmasse, der Teilchengröße und deren Verteilungen beeinflusst. Im Rahmen dieser Arbeit wurden ausgewählte wasserlösliche Polysaccharide und Polysaccharidderivate polymeranalytisch mittels einer kombinierten Anlage aus Größenausschlusschromatographie, Vielwinkellaserlichtstreuung und Konzentrationsdetektor charakterisiert. Zusätzlich erfolgte eine Untersuchung mittels Viskosimetrie und NMR-Spektroskopie zur Komplementierung von Polymerdaten.

Die Charakterisierung von Polymeren in Lösung ist problematisch, da hierbei mit hoch reinen und entgasten Lösungsmitteln gearbeitet werden muss. Im Gegensatz zu organischen Lösungsmitteln ist dies in wässrigen Lösungsmitteln besonders problematisch, da hier mikrobieller Befall mit Bakterizid verhindert werden muss und aufgrund des polaren Charakters von Wasser Verunreinigungen wie Staub angezogen werden. Ein mikrobieller Befall, Gasblasen oder eine Verunreinigung durch Staub würden eine Bestimmung unmöglich machen, weil diese Teilchen als Streuzentrum im Lichtstreuendetektor zu einer stark erhöhten und unstabilen Basislinie führen bzw. durch die Überlagerung der Streustrahlungen von der Verunreinigung und der Probensubstanz. Eine weitere Problematik geht von den Substanzen an sich aus, da Polysaccharide und deren Derivate komplexe Überstrukturen, wie Aggregate und Assoziate, ausbilden können. Aufgrund dieser Problematik lagen vor der Arbeit nur wenige Struktur-Eigenschafts-Beziehungen von nachwachsenden Rohstoffen in wässrigen Lösungen vor, die in dieser Arbeit um neun Struktur-Eigenschafts-Beziehungen ergänzt wurden.

Die in dieser Arbeit untersuchten Substanzen waren Pullulane, Dextrane, Carrageenane und aus der Gruppe der Amylopektinderivate Hydroxyethylstärke *HES* und Acetylstärke *AS*. In der Gruppe der Cellulosederivate wurden Methylcellulose *MC*, Carboxymethylcellulosen *CMC*, Methylhydroxyethylcellulosen *MHEC* und hydrophob modifizierte Hydroxyethylcellulosen *hmHEC* charakterisiert. Die untersuchten Substanzen gliederten sich in ungeladene/verzweigte, ungeladene/lineare und anionische/lineare Systeme.

Die Fraktionierungseinheit Größenausschlusschromatographie erweist sich als eine sehr gut geeignete Methode in der Gruppe der verzweigten, ungeladenen Polymersysteme. In dieser

Gruppe waren die Dextrane, Acetylstärken und Hydroxyethylstärken. Aufgrund der sehr kompakten Struktur der Verbindungen erhält man Teilchengrößen von unter 50nm. Durch die eingesetzten Lichtquellen im Lichtstreuophotometer (Wellenlänge  $\lambda$  Laser: 632 nm, Laser-LED: 690 nm) ist die gerätespezifische Messgrenze der Teilchengröße physikalisch vorgegeben und liegt bei  $\lambda/20$  (35 nm). Der Fehler für die Gyrationen bzw. für die Teilchengröße ist nahe der Bestimmungsgrenze sehr groß. Selbst für das Dextran mit der höchsten gewichtsmittleren Molmasse von 694.000 g/mol ergab sich eine Teilchengröße unter 35 nm, dies galt auch für die Acetylstärken mit der höchsten Molmasse von 598.000 g/mol und Hydroxyethylstärken mit 523.000 g/mol. Bei den Dextranen und den Hydroxyethylstärken ergab der Vergleich mit den Herstellerdaten eine gute Übereinstimmung.

Die auf Basis enzymatisch degradierter amylopektinreicher Stärken (Wachsmaisstärke und Amioca-Stärke mit einem Amylopektin Gehalt > 99%) synthetisierten Acetylstärken wurden nicht nur bezüglich des Substitutionsgrades und der Molmasse sowie der Molmassenverteilung untersucht, sondern speziell für den Einsatz als medizinisches Produkt auch die Lagerstabilität in Lösung bestimmt.

Für die weniger stabile Esterbindung der Acetylsubstituenten in der Acetylstärke bezogen auf die Etherbindung in der Hydroxyethylstärke, konnte über einen enzymatischen Essigsäurenachweis mittels *UV/VIS*-Spektroskopie gezeigt werden, dass weniger als 0,5 % der Acetylsubstituenten als Essigsäure in den ersten 25 Tagen der Lagerzeit abgespalten wurden, was einer Änderung im durchschnittlichen Substitutionsgrad in der dritten Nachkommastelle entsprechen würde und somit vernachlässigbar ist. Aufgrund der geringen Menge von freisetzbare Essigsäure und der Problematik der basischen und sauren Hydrolyse der Esterbindung konnten keine klassischen Methoden, wie titrimetrische Verfahren eingesetzt werden.

Neun Acetylstärken, die mittels kombinierter Anlage SEC/MALLS/RI bezüglich der gewichtsmittleren Molmassen charakterisiert wurden, zeigten über eine Lagerzeit von 205 Tagen innerhalb der Reproduzierbarkeit keine Abnahme der gewichtsmittleren Molmasse. Es konnte gezeigt werden, dass es Unterschiede zwischen den Stärkeedukten Wachsmaisstärke und der gentechnisch hergestellten Amioca-Stärke gibt. Acetylstärken auf Wachsmaisstärkebasis sind mit weniger als 5% Molmassenreduzierung stabiler, wobei diese Reduzierung nicht als Abnahme zu Werten ist (siehe Fehlerdiskussion). Der Vergleich der differenziellen Molmassenverteilungen der Proben AS291, AS297 und AS296 zeigt in

Abbildung 134 nur geringe Unterschiede in der Verteilung zwischen den beiden Proben AS296 und AS297 aus Amioca-Stärke. Beide haben im hochmolekularen Bereich eine Schulter und die Verteilungsbreite ist größer als bei der Acetylstärke AS291 aus Wachsmaisstärke. Aufgrund der Ähnlichkeit der Verteilungen der Acetylstärken AS296 und AS297 ist es nicht verständlich, warum die Acetylstärke AS296 als einzige Probe eine Molmassenreduzierung von 17% zeigt. Eine Argumentation über hochmolekulare Anteile, die bevorzugt abgebaut werden, kann aufgrund der Probe AS297, deren hochmolekulare Anteile größer sind, nicht erfolgen, da diese Probe lagerstabil war.

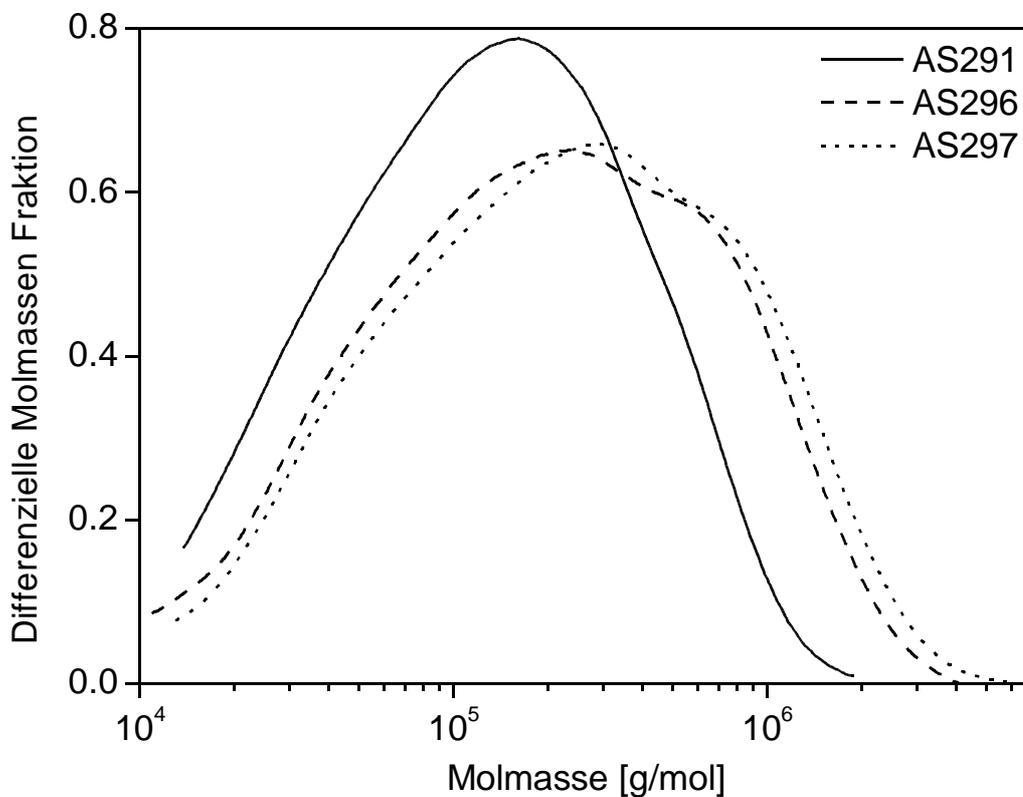


Abbildung 134: Auftragung der differentiellen Molmassenverteilungen der Acetylstärken AS291 (Wachsmaisstärke), AS296 (Amioca) und AS297 (Amioca) bestimmt mittels SEC/MALLS/RI in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.

Viskosimetrische Einpunktmessungen zeigten einen konstanten Verlauf über die Lagerzeit von 132 Tagen in Bakterizid haltigen Lösungsmitteln. Die NMR-spektroskopischen Untersuchungen über 5 Monate ergaben nur eine minimale Differenz im durchschnittlichen Substitutionsgrad von 0,03 (Probe AS291).

Die Acetylstärken zeigten eine sehr gute Lagerstabilität und die Molmassen und Molmassenverteilungen der Acetylstärken lagen im Vergleich zu den Hydroxyethylstärken im einsatzrelevanten Bereich. Die Lagerstabilität wurde in Lösungen ohne Bakterizid durch mikrobiellen Befall gestört, da keine Möglichkeiten vorhanden waren absolut steril zu arbeiten. Es wäre wünschenswert die Lagerstabilität einer Probe unter absolut sterilen Bedingungen zu beobachten.

In der Gruppe der ungeladenen, linearen Polymere waren die Pullulane, die Methylcellulosen, die Methylhydroxyethylcellulosen und die hydrophob modifizierten Hydroxyethylcellulosen. Die Messdaten der Pullulane bezüglich der Molmassen stimmten gut mit den Herstellerangaben überein. Bei den 10 Proben der Methylhydroxyethylcellulosen handelte es sich um zwei Gruppen mit verschiedenen Mischungsverhältnissen von drei modifizierten Zellstoffen. Durch das unterschiedliche Abmischen wurden innerhalb einer Gruppe Proben mit unterschiedlichen Verteilungsbreiten erzeugt. Die Auswirkungen auf die gewichtsmittlere Molmasse, den Gyrationradius und deren Verteilungen wurden bestimmt. Die Elutionsdiagramme von den Proben, die aus einer Mischung von verschiedenen modifizierten Zellstoffen bestanden, zeigten keine Auffälligkeiten im Vergleich zu Proben aus nur einer modifizierten Zellstoff.

Problematisch wird es bei nicht molekular dispers gelösten Verbindungen, die aufgrund ungelöster Bestandteile bei der Probenvorbereitung und der Limitation der Größenausschlusschromatographie (siehe Kapitel 3.4.3 Limitation der Größenausschlusschromatographie) nicht richtig charakterisiert werden können. Der Einfluss aggregierender Systeme wurde bei 14 Proben hydrophob modifizierter Hydroxyethylcellulosen *hmHEC* mit Unterschieden in der Länge der hydrophoben Alkylkette von 8 bis 22 (C-Atom Anzahl) und im hydrophoben Anteil von 0,10 bis 3,29 Gewichtsprozent aufgezeigt. Selbst anionisch geladene, lineare Polymere wie die Carboxymethylcellulosen und die  $\lambda$ -Carrageenane ließen sich gut charakterisieren und zeigten keine Anzeichen eines Ionenausschlusses.

Die anwendungsrelevante Größe der kritischen Polymerkonzentration  $c^*$ , welche die vollständige Raumerfüllung der Gelknäule von Polymeren in Lösung ohne Durchdringung bzw. Scherung beschreibt, zeigt für den Vergleich der Werte zwischen den beiden Methoden der Lichtstreuung  $c^*_{LS}$  und der Viskosität  $c^*_{[\eta]}$  für die verschiedenen Substanzen einen

Unterschied. Während der Faktor (Tabelle 51) bei den verzweigten Systemen kleiner bzw. gleich 10 ist, zeigen die linearen Systeme mit Ausnahme von Pullulan einen Faktor über 10. Dieser Faktor liegt bei den Cellulosederivaten weit über 20. Die Einzelwerte der Faktoren zwischen den kritischen Polymerkonzentrationen schwanken stark, weil je nach Synthesebedingung erhebliche Unterschiede auftreten können. Im Vergleich der verschiedenen Bindungstypen zeigen sich ebenfalls Unterschiede, so ist der Faktor der  $\beta$ -glykosidisch verknüpften Cellulosederivate um mehr als das dreifache größer als der Faktor der  $\alpha$ -glykosidisch verknüpften Substanzen (Dextran, Acetylstärke, Hydroxyethylstärke und Pullulan).

*Tabelle 51: Vergleich der Faktoren zwischen den kritischen Polymerkonzentrationen der Lichtstreuung  $c^*_{LS}$  und der Viskosität  $c^*_{[\eta]}$  für die verschiedenen Substanzen in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.*

<b>Substanz</b>	<b><math>c^*_{[\eta]}/c^*_{LS}</math></b>	<b>D-Glucose Verknüpfung</b>
<b>Verzweigt</b>		
Dextran	4	$\alpha$ -(1,6) mit $\alpha$ -(1,3) Verzweigungen
Acetylstärke	9	$\alpha$ -(1,4) mit $\alpha$ -(1,6) Verzweigungen
Hydroxyethylstärke	10	
<b>Linear</b>		
Pullulan	7	Linear $\alpha$ -(1,4), $\alpha$ -(1,6)
$\lambda$ -Carrageenane	12	Lineares Galaktose-Polysaccharid
Hydrophob modifizierte Hydroxyethylcellulose	22	Linear $\beta$ -(1,4)
Methylcellulose	25	Linear $\beta$ -(1,4)
Carboxymethylcellulose	28	Linear $\beta$ -(1,4)
Methylhydroxyethylcellulose	35	Linear $\beta$ -(1,4)
<b>Linear, synthetisch</b> (Quelle: [122])		
Polystyrol (Toluol)	10	-
Polyacrylamid (Wasser)	10	-

Auch der Vergleich zwischen linearen synthetischen Polymeren und Cellulosederivaten zeigt einen erheblichen Unterschied in den Faktoren der kritischen Polymerkonzentrationen, da die linearen synthetischen Polymere einen sehr viel geringeren Faktor von 10 haben. Deshalb ist es wichtig die Polymerdaten nicht nur mit der relativen Methode Viskosimetrie, sondern mit

einer absoluten Methode, wie der kombinierten Anlage, zu ermitteln.

Aus den Ermittelten molekularen Parametern konnten Struktur-Eigenschafts-Beziehungen in Form der Mark-Houwink-Beziehung ( $[\eta]$ -M-Beziehung) und der  $R_G$ -M-Beziehung erstellt werden. Diese sind in der Tabelle 52 wiedergegeben. Für die Cellulosederivate sind zusätzlich die über inverse-gated-decoupling *IGATED-NMR* Methode bestimmten Substitutionsgrade angegeben. Aus dem Aufweitungsparameter  $a$  geht die Lösungsstruktur der Substanzen hervor. Die Lösungsstruktur der Cellulosederivate und der Pullulane liegen zwischen einem teilweise und vollständig durchspülten Polymerknäuel, es liegen demnach aufgeweitete Strukturen in Lösung vor. Die Dextrane besitzen eine kompakte Lösungsstruktur, die aufgrund des verzweigten Aufbaus zu erwarten war. Zusätzlich ist der Aufweitungsparameter  $a$  für Hydroxyethylstärke aus der Literaturstelle [135] aufgeführt. Dieser zeigt genau wie der von den Dextranen eine kompakte Lösungsstruktur, wobei der Wert sogar noch kleiner ist. Einen Einfluss des Bindungstyps ( $\alpha$ -,  $\beta$ -) auf den Exponenten  $a$ , wie bei der kritischen Polymerkonzentration  $c^*$ , konnte nicht ermittelt werden.

*Tabelle 52: Struktur-Eigenschafts-Beziehungen der verschiedenen Substanzen in 0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid bei 25°C.*

<b><math>R_G</math>-M Beziehung</b>		<b><math>[\eta]</math>-M-Beziehung</b>		<b>Substanz</b>
$K_{RG}$	$\nu$	$K_{[\eta]}$	$a$	
$2,34 \cdot 10^{-1}$	0,45	$8,82 \cdot 10^{-3}$	0,91	Methylcellulose (DS = 1,8 bis 2,09)
$2,16 \cdot 10^{-1}$	0,47	$1,06 \cdot 10^{-3}$	1,05	Carboxymethylcellulose (DS = 1)
$4,67 \cdot 10^{-2}$	0,46	$1,69 \cdot 10^{-1}$	0,46	Dextrane
$6,19 \cdot 10^{-3}$	0,65	$4,65 \cdot 10^{-4}$	0,95	Pullulane
$3,22 \cdot 10^{-2}$	0,57	-	-	$\lambda$ -Carrageenan
		1,040	0,42	Hydroxyethylstärke [135]

Ein weiterer wichtiger Parameter für die Bestimmung der molekularen Daten ist die Wiederfindungsrate. Der Fehler der Wiederfindungsrate, das prozentuale Verhältnis zwischen der Polymereinwaage und der von dem Konzentrationsdetektor ermittelten Masse über den Elutionspeak, ist relativ groß, wie im Kapitel der Fehlerbetrachtung gezeigt. Werte über 85%

sind deshalb sehr gute Wiederfindungsraten. Einen wichtigen Einfluss auf die Wiederfindungsrate hat die Löslichkeit des Polymers und damit die Probenvorbereitung. Denn schon bei der Probenvorbereitung kann ein Teil der Probe entfernt (gelartiger Rückstand) werden, der nicht molekular dispers gelöst ist. Zusätzlich können Probenanteile wie Assoziate oder Aggregate durch die Vorsäule der Größenausschlusschromatographie abgetrennt bzw. zerstört werden. Die Wiederfindungsraten in der Gruppe der ungeladenen und verzweigten Polymere war durchgehend sehr gut (Dextrane  $\geq 91\%$ , Acetylstarke  $\geq 86\%$  und Hydroxyethylstarke  $\geq 87\%$ ). Die verzweigten Polymere zeigten alle eine gute Löslichkeit und aufgrund der kompakten Struktur erfolgt bei diesen Substanzen kein Abtrennen auf der Vorsäule.

In der Gruppe der ungeladenen linearen Polymere waren zum Teil Unterschiede in der Wiederfindungsrate vorhanden. Die Pullulane zeigten eine sehr gute Wiederfindungsrate von über 90%. Die Methylcellulosen mit einem durchschnittlichen Substitutionsgrad von 1,8 bis 2,09 zeigten eine gute Löslichkeit und eine gute Wiederfindungsrate von über 83%.

Die Methylhydroxyethylcellulosen zeigten Unterschiede in der Wiederfindungsrate zwischen den beiden Gruppen mit verschiedenen Substitutionsgraden (Gruppe 1: DS = 1,64 bis 1,68 und MS = 0,19 bis 0,30, Gruppe 2: DS = 1,75 bis 1,80 und MS = 0,29 bis 0,33). In der niedriger substituierten Gruppe 1 wurden Wiederfindungsraten von über 90% gefunden, während in der höher substituierten Gruppe 2 nur Wiederfindungsraten von 72 bis 91% gefunden wurde. Dies kann durch den höheren hydrophoben Anteil und damit durch einen höheren Anteil an Überstrukturen erklärt werden, die durch die Probenvorbereitung und die Vorsäule abgetrennt werden.

Die hydrophob modifizierten Hydroxyethylcellulosen, die auch als Assoziativverdicker eingesetzt werden, zeigten extrem schlechte Wiederfindungsraten (13-64%) und waren bis auf zwei Ausnahmen mit Wiederfindungsraten über 90% nur mäßig charakterisierbar. Bei der Probenvorbereitung waren bei vielen hmHEC-Proben ungelöste Bestandteile ersichtlich. Hier konnten nur die löslichen Bestandteile charakterisiert werden, was aber nur wenig Aussagekraft hat, da ihre Eigenschaften extrem von den nicht charakterisierbaren Anteilen abhängen.

In der Gruppe der anionischen linearen Polymere zeigten die  $\lambda$ -Carrageenane gute Wiederfindungsraten von über 74%. Die Carboxymethylcellulosen zeigten eine molmassenabhängige Wiederfindungsrate. Während die Wiederfindungsraten für die Carboxymethylcellulosen bis ca. 700.000 g/mol über 90% liegen, fällt sie bei höheren

---

Molmassen bis auf 42% ab. Für Molmassen über 700.000 g/mol gilt das Gleiche, wie für die hydrophob modifizierten Hydroxyethylcellulosen.

Hier liegt ganz klar eine Limitation der Größenausschlusschromatographie vor. An dieser Stelle wäre der Einsatz einer anderen Fraktionierungseinheit sinnvoll, die nicht der Limitation der Größenausschlusschromatographie unterliegt. Eine solche Fraktionierungseinheit wäre die asymmetrische Fluss Feld-Fluss-Fraktionierung  $aF^d$ . Diese arbeitet ohne stationäre Phase und fraktioniert über ein Strömungsfeld orthogonal zur Kanalströmung. Ein Vergleich der Polymerdaten von der kombinierten Anlage *SEC/MALLS/RI* mit der kombinierten Anlage  $aF^d$ /*MALS/RI* hätte bei den Cellulosederivaten Unterschiede aufzeigen können. Auch im Vergleich der kompakten, verzweigten Polymere (Dextran, Hydroxyethylstärke und Acetylstärke), wo die Fraktionierungsmethode der Größenausschlusschromatographie sehr gut funktioniert, wäre der Vergleich bezüglich der Limitation durch den Membranausschluss bei der  $aF^d$  von Polymeren mit zu kleiner Teilchengröße bzw. Molmasse interessant gewesen.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass die kombinierte Anlage aus Größenausschlusschromatographie, Vielwinkellaserlichtstreuung und Konzentrationsdetektion eine geeignete Methode zur Bestimmung der molekularen Parameter darstellt. Wichtige Struktur-Eigenschafts-Beziehungen wären ohne diese Analytik nicht zugänglich. Die ermittelten Ergebnisse sind von grundlegender und anwendungsrelevanter Bedeutung und waren notwendig für weiterführende rheologische Charakterisierungen, die eine Korrelation mit Caber-Experimenten erlaubten (eingereicht für den Rheofuture Preis 2004). Die Daten der Acetylstärken, die als alternative Blutplasmaexpander zu den Hydroxyethylstärken eingesetzt werden sollen, sind bezüglich der molekularen Daten und der Lagerstabilität von besonderer Bedeutung.

## 6 Fehlerdiskussion

Man unterscheidet bei wissenschaftlichen Arbeiten drei Arten von Fehlern, die die Ergebnisse beeinflussen.

Menschlicher Fehler (human Error): Diese Fehler entstehen aus einem Benutzerfehler, d.h. eine Probe wurde im Autosampler falsch platziert oder es wurden Beschriftungen vertauscht. Daraus resultiert ein falscher Messwert für diese Proben. Für diese Benutzerfehler gibt es keine statistische Beschreibung und sie sind auch bei sorgfältiger Arbeitsweise nicht total auszuschließen und führen zu einem Fehler von 100 Prozent.

Systematischer Fehler (systemic error): Systematische Fehler sind ebenfalls nicht statistisch zu analysieren und resultieren z.B. aus einer fehlerhaften Kalibrierung von Instrumenten. Dies führt zu einer Messwertverschiebung, die auf alle Messungen denselben Einfluss haben. Man spricht in diesem Fall auch von einer konstanten Verschiebung der Messwerte. Ein weiteres Beispiel ist ein immer auf die gleiche Art falsch abgelesenes Messinstrument.

Deshalb wurden das Abwiegen, das Einfüllen, das Abmessen und die Probenbehandlung immer mit den selben Geräten (Spatel, Pipetten, Waagen, Zentrifugen, Schüttelapparat, usw.) durchgeführt, um den systematischen Fehler gering zu halten (Gleichbehandlung aller Proben).

Der absolute Fehler in der Lichtstreuung hängt von der Genauigkeit der Kalibrierung des Lichtstreuophotometers ab und ist wegen der Unsicherheit der zugrunde gelegten Absolutstreuung von Toluol nicht genau bekannt. Eine weitere Fehlerquelle ist die Bestimmung des Versatzes zwischen Lichtstreuophotometer und Konzentrationsdetektor. Der Versatz hat einen Einfluss auf die Zuordnung von den Signalen des Lichtstreuophotometers und des Konzentrationsdetektors, d.h. welche Konzentration welchem Lichtstreusignal zugeordnet wird. Es gibt zwei Ansätze den Versatz zu bestimmen: Der erste Ansatz geht von einem eng verteilten Standard aus, bei dem der Versatz aus dem Abstand der beiden Maxima (Streulichtsignal und Konzentrationssignal) bestimmt wird. Es wird davon ausgegangen, dass die beiden Maxima identisch bei der Lichtstreuung und bei der Konzentrationsbestimmung sind. Der zweite Ansatz ist ein mathematischer Ansatz und geht von der Volumenberechnung zwischen den beiden Geräten aus. Man kennt die Dimensionen der Kapillare und kann das Volumen ausrechnen. Dies ist aber nicht so einfach, da es in den Geräten ein spezifisches Totvolumen bis zur Messzelle gibt, welches meistens nicht genau bekannt ist. Man kann das

mathematische Verfahren als Kontrolle nutzen, da man nicht aufgrund des unbestimmten Totvolumens unter dem berechneten Wert liegen kann. Insgesamt kann ein Fehler von 10 % für die Lichtstremessungen angegeben werden.

Die prozentuale Wiederfindungsrate *WF* hat einen Fehler von  $\pm 10\%$ , der aufgrund der Probenvorbereitung, der Volumengenauigkeit bei der Injektion im Autosampler und der integralen Massenbestimmung mittels eines konstanten Brechungsindexinkrements erfolgt. Gerade an den Peakgrenzen ist aufgrund der unterschiedlichen Detektor Genauigkeit der beiden verwendeten Detektoren der Fehler sehr groß. Dies kommt daher, dass der Konzentrationsdetektor an der niedermolekularen Flanke bei hohen Elutionsvolumen für kleine Moleküle in entsprechender Konzentration noch gute Signale liefert, während der Lichtstredetektor sich hier an der Messgrenze befindet nur noch ein sehr geringes Signal liefert. An der hochmolekularen Flanke bei niedrigeren Elutionsvolumen kehrt sich das ganze um. Ein Wert von über 85% entspricht einer sehr guten Wiederfindungsrate.

Den größten Einfluss auf die Bestimmung der relativen Viskositäten hatte die Temperatur. Deshalb wurde ein moderner Thermostat zur Temperierung eingesetzt, der aber auch nicht frei von geringen Temperaturschwankungen war. Eine weitere wichtige Fehlerquelle war die Probenpräparation (Gleichbehandlung). Die Viskosimetrieanlage verfügte schon über ein Lichtschranken gestütztes Zeiterfassungssystem im Hundertstel Sekunden Bereich. Für die Viskosimetrie ergibt sich ein Fehler von 5% für die Messungen.

Zufälliger Fehler (random error) : Zufällige Fehler sind der Hauptbereich der statistischen Auswertung und können zwei Quellen haben. Ersten eine zufällige Variabilität bzw. Uneinheitlichkeit der Proben oder Substanzen und zweitens eine limitierte Präzision des analytischen Equipments. Um diese Fehler zu beschreiben, gibt es die beiden Größen Standardabweichung und mittlere Abweichung. Die Homogenisierung der Probe auf einem Schüttelapparat wird als ideal angenommen. Es wird jeweils nur ein kleiner Teil der Probe zum Vermessen entnommen (zwischen 500  $\mu\text{l}$  und 25  $\mu\text{l}$ ). Dieses Probenvolumen soll repräsentativ für die ganze Probe sein. Um zufällige Fehler durch Inhomogenität auszuschließen, wurde jede Probe mehrmals vermessen.

## 7 Experimenteller Teil

### 7.1 Lösungs- und Elutionsmittel

Das Lichtstreulösungsmittel ist eine 0,1 mol/l Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid als Bakterizid. Die Natriumnitratlösung wurde mit entionisiertem Wasser, welches über eine Aktivkohle- und zwei Ionentauscher-Säulen (Adsorber, Universal und Research, Novodirect, Kehl/Rh.) gereinigt wurde, hergestellt. Das Natriumnitrat (reinst) und das Natriumazid wurden bei der Firma Merck (Merck eurolab GmbH, Darmstadt) bezogen. Das Lösungsmittel wurde über einen Celluloseacetat-Filter (Sartorius, Göttingen) der Porengröße 0,2 µm filtriert.

### 7.2 Proben und Probenvorbereitung

Die Proben wurden auf einer Chyo JL-200 Analysenwaage (Chyo) eingewogen und, soweit nicht anders angegeben, in Lichtstreulösungsmittel (0,1 M Natriumnitratlösung mit 200 ppm Natriumazid) gelöst. Zur Homogenisierung der Polymerlösungen wurden diese auf einem Schüttelapparat GFL-3005 (Gesellschaft für Labortechnik mbH, Germany) geschwenkt. Direkt vor der Messung wurden die Proben in der Zentrifuge vom Typ Biofuge pico (Heraeus Instruments, Osterode) bei 13.000  $U_{\text{Min}}$  für eine Stunde zentrifugiert und in die Probefläschchen Alltech-Vials (Alltech, Deerfield) überführt.

### 7.3 Ultraschalldegradation

Die Ultraschalldegradation erfolgte mit einem Sonifier 450 der Firma Branson Ultrasonic (Danburg, USA), der mit einer Frequenz von 20 KHz arbeitet. Die angesetzten Proben mit einem Volumen von 200 ml wurden in einem 400 ml Becherglas hoher Bauform gegeben. Das Becherglas wurde in einem Ethanolkühlbad Haake K F4 der Firma Haake (Haake, Berlin) unter 25 °C gehalten, um eine thermische Degradation auszuschließen. Der Titanresonator wurde mit der Arbeitsspitze in die Lösung getaucht, um die Probe zu beschallen. Nach der Ultraschalldegradation wurden die Proben eine Stunde bei 13.000 U/Min in der Zentrifuge Hermle Z 383 (Hermle Labortechnik, Wehingen) zentrifugiert, eingefroren und an der BETA 1-16 der Firma Christ (Osterode, Deutschland) gefriergetrocknet.

## 7.4 Viskosimetrieanlage

Die viskosimetrischen Messungen wurden mit einem Mikrokapillarviskosimeter Ic nach Ubbelohde Typ-Nr.536 13 der Firma Schott-Geräte (Hofheim, Deutschland) in einem Wasserbad des Typ D 40.S Nr. 60208 der Firma Lauda (Königshofen, Deutschland) durchgeführt. Zur Datenerfassung kam im Wasserbad ein Gestell mit integrierter Lichtschranke des Typs S 3 Nr. G03028 der Firma Lauda (Königshofen, Deutschland) zum Einsatz, das mit einem digitalen Zählwerk vom Typ Viscoboy 2 (VB/2 Nr. 607003) verbunden war. Die Messungen erfolgten soweit nicht anders angegeben bei 25,0°C, wobei zur Temperierung ein externer Thermostat des Typs 002-4278 K 20 von der Firma Haake (Karlsruhe, Deutschland), mit der Steuereinheit DC1 Typ 002-9917 eingesetzt wurde. Der Aufbau der Anlage ist in Abbildung 135 wiedergegeben.



Abbildung 135: Viskosimetrieanlage.

## 7.5 Enzymatische Essigsäurebestimmung mittels UV/VIS

Die enzymatische Essigsäurebestimmung mittels UV/VIS erfolgte mit dem Enzymkit Best. Nr. 10.148.261.035 der Firma R-Biopharm (Darmstadt, Deutschland). Als UV/VIS-Gerät kam das Jasco V530 UV/VIS der Firma Dewert Labor-Technik mit der Software „Spectramanager for Windows“ in der Version 1.3 zum Einsatz.

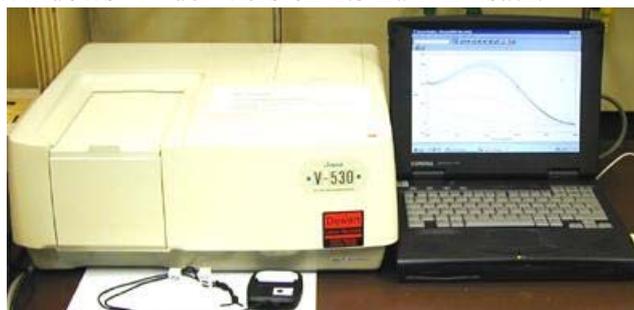


Abbildung 136: Das UV/VIS Gerät Jasco V530.

## 7.6 SEC-Anlage (SEC/MALLS/RI)

Als Laufmittel wurde Lichtstreulösungsmittel (0,1 M NaNO<sub>3</sub>, 200 ppm NaN<sub>3</sub>) verwendet, das mit einer HPLC-Pumpe Gynkotek 300C (Gynkotek, Germering) gefördert wurde. Das Laufmittel wurde vor der Pumpe on-line durch den Degaser ERC 3315a (ERC Inc., Alteglofsheim) entgast und nach der Pumpe über einen Anotop-Filter der Porengröße 0,02 µm (Whatman International Ltd., Maidstone, England) filtriert. Es wurde ein Pulsationsdämpfer (Techlab, Erkerode) verwendet. Die Proben wurden über den Autosampler HP Series 1100 (Hewlett Packard) injiziert. Direkt vor den Säulen befand sich ein weiterer Filter mit der Porengröße 0,8 µm (Polycarbonatfilter, Nucleopore, Corning Costar, Bodenheim). Die Messungen wurden bei einer Temperatur von 298 K durchgeführt. Der Aufbau der Anlage ist in der Abbildung 137 skizziert wiedergeben.

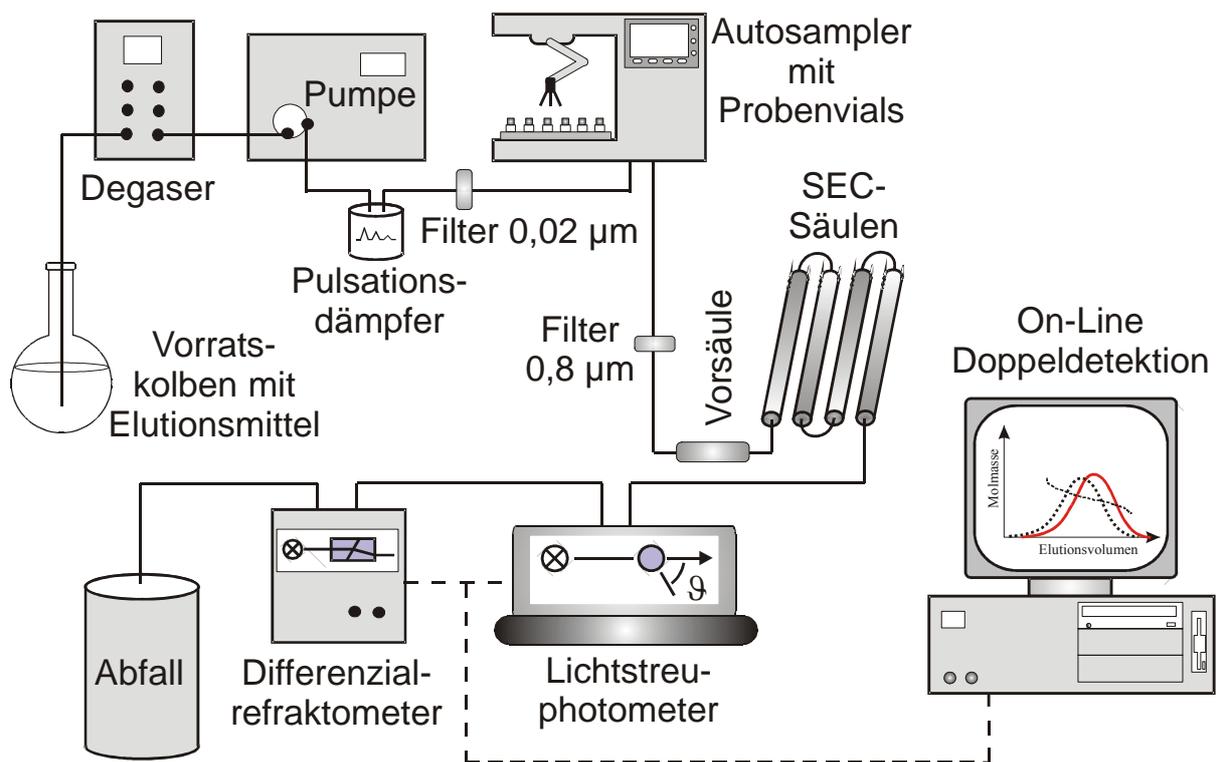


Abbildung 137: Aufbau der kombinierten Anlage SEC/MALLS/RI mit den SEC-Säulen, dem Lichtstreu-photometer und dem Konzentrationsdetektor.

### 7.6.1 SEC-Säulen

Die Fraktionierung der Polymerproben erfolgte soweit nicht anders angegeben über vier TSK PW<sub>XL</sub> Säulen (TosoHaas, Stuttgart), die in der Reihenfolge abnehmender Porengröße angeordnet waren. Zum Schutz der Säulen wurde eine Vorsäule des gleichen Materials vorgeschaltet. Das Säulenfüllmaterial bestand aus einem Polymethacrylatbasierenden Polymer und zeichnete sich durch hohe mechanische und chemische Stabilität aus (pH-Bereich von 2 bis 12). Die Säulen haben einen Innendurchmesser von 7,8 mm und eine Länge von 300 mm. Die wichtigsten technischen Daten sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst :

<i>Säulenbezeichnung</i>	<i>Partikelgröße [<math>\mu\text{m}</math>]</i>	<i>Anwendungsbereich lt. Hersteller (PEO/PEG <math>M_w</math>)</i>	<i>Bodenzahl</i>
G6000PWXL	13	40.000 bis 8.000.000	> 7000
G5000PWXL	10	4.000 bis 1.000.000	> 10.000
G4000PWXL	10	2.000 bis 300.000	> 10.000
G3000PWXL	6	bis 50.000	> 16.000

Der zweite Säulensatz war eine Kombination aus drei PL<sub>AQUAGEL</sub> (Polymer Laboratories, Waltrip, Deutschland) mit vorgeschalteter Vorsäule, mit den gleichen Abmessungen wie TSK-Säulen. Das Säulenfüllmaterial basiert auf mit Divinylbenzol quervernetztem Polystyrol. Die Herstellerangaben zu den Säulen sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

<i>Säulenbezeichnung</i>	<i>Partikelgröße [<math>\mu\text{m}</math>]</i>	<i>Anwendungsbereich lt. Hersteller</i>	<i>Bodenzahl</i>
PL <sub>Aquagel</sub> -OH 60	15	200.000 bis >10.000.000	> 15.000
PL <sub>Aquagel</sub> -OH 50	15	50.000 bis 1.000.000	> 15.000
PL <sub>Aquagel</sub> -OH 40	15	10.000 bis 200.000	> 15.000

Die SEC-Säulen wurden mit einem Techlab Chromatography Säulenofen (Techlab, Erhrode) auf konstant 298 K gehalten.

### 7.6.2 Detektion

Zur Streulichtmessung wurde ein DAWN-F Lichtstreuphotometer (Wyatt Technology Corp., Santa Barbara, USA) verwendet, dessen Lichtquelle ein He-Ne-Laser ( $\lambda_0 = 632,8$  nm) ist. Das Streulicht wurde simultan von fünfzehn Fotodioden im Winkelbereich von  $26,56^\circ$  bis  $144,46^\circ$  aufgenommen. Die Durchflusszelle besteht aus hochbrechendem Glas (K5,  $n_g = 1,52064$ ). Die Konzentrationsbestimmung erfolgte mit einem Shodex RI SE-71 (Showa Denko, Tokyo, Japan) Differenzialrefraktometer, welches mit einer Konzentrationsreihe von Natriumchloridlösung kalibriert wurde. Die Aufzeichnung der Messdaten erfolgte auf einem Standard PC mit dem Programm *ASTRA 2.11b* und die Auswertung mit der Version *ASTRA for Windows 4.73.04* (Wyatt Technology Corp., Santa Barbara, USA).

### 7.7 Brechungsindexinkrement

Das Brechungsindexinkrement wurde auf dem Interferometer Optilab DSP (Wyatt Technology Deutschland) mit einer P2L-Messzelle und der Software *DnDc 5.2* (Wyatt Technology Corp., Santa Barbara, USA) bestimmt. Das Injizieren der einzelnen Konzentrationen einer Verdünnungsreihe erfolgte mit einer Spritzenpumpe vom Modell A-99 der Firma Bioblock Scientific (Frankreich) mit einem aufgesetzten Einmalfilter Anotop 10 der Firma Whatman (Maidstone, England) mit  $0,2 \mu\text{m}$  Porengröße.

### 7.8 NMR-Spektroskopie

Zur Aufnahme der Spektren wurde ein Bruker Avance 400 (Rheinstetten, Deutschland) eingesetzt, welches mit einem 10 mm SEX  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ -Dualprobenkopf ausgestattet ist. Die IGATED-Spektren wurden mit einer Messfrequenz von 100 Mhz und einer Entkopplerfrequenz von 400 Mhz aufgenommen. Die Pulslänge betrug  $9 \mu\text{s}$  und das Relaxationsdelay 10 s. Die Aufnahme und Auswertung der Spektren erfolgte mit der Software Bruker WIN-NMR (Bremen, Deutschland).

---

## 7.9 Enzymatische Degradation von Stärke

Es wurden 1,7 l Wasser (pro analysis, FLUKA) 1 h unter Rückfluss gekocht und auf Raumtemperatur abgekühlt. Dann wurde 60 g Stärke unter starkem Rühren suspendiert und für 1 h unter Rückfluss gekocht. Diese Lösung wurde bei Raumtemperatur über Nacht gerührt und anschließend auf exakt 37°C temperiert. Es wurden 0.5 g Calciumchlorid  $\text{CaCl}_2$  und 0,005 g  $\alpha$ -Amylase (Hog Pancreas, FLUKA) zugesetzt. Zur Deaktivierung des Enzyms wurde die Lösung autoklaviert (thermische Denaturierung) und die erhaltene Probe nach dem Abkühlen dreifach filtriert. Ein Teil des Wassers wurde im Vakuum abgezogen und die verbleibende Substanz gefriergetrocknet.

## 8 Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
a	Aufweitungsparameter der Mark-Houwink-Beziehung ( $[\eta]$ -M-Beziehung)
$A_2$	Zweiter Virialkoeffizient
$A_3$	Dritter Virialkoeffizient
AS	Acetylstärke
ACS	Acetyl-Coenzym A-Synthetase
AGU	Anhydroglucoseunit, Anhydroglukoseeinheit
AMP	Adenosin-5'-monophosphat
ATP	Adenosin-5'-triphosphat
c	Konzentration
$\langle c \rangle_p$	Konzentration innerhalb der Poren
$\langle c \rangle_0$	Konzentration außerhalb der Poren
cos	Cosinus
calc.	Berechnet, kalkuliert
CA	Celluloseacetat
CAB	Celluloseacetobutyrat
CAP	Celluloseacetopropionat
CMC	Carboxymethylcellulose
CMHEC	Carboxymethylhydroxyethylcellulose
CN	Cellulosenitrat
CoA	Coenzym A
CP	Cellulosepropionat
CS	Citrat-Synthetase
d	Schichtdicke
DEX	Dextran
dn/dc	Brechungsindexinkrement
DNA	Desoxyribonukleinsäure (Erbsubstanz)
DS	Durchschnittlicher Substitutionsgrad
EC	Ethylcellulose
EHEC	Ethylhydroxyethylcellulose
EGT	Reducing End Group Titration, Endgruppentitration
FT	Fourier Transformation
$\Delta G^0$	Gibbssche freie Enthalpie
GPC	Gel Permeation Chromatography
h	Fadenendabstand, End-zu-End-Abstand
$\Delta H^0$	Enthalpie
He-Ne-Laser	Helium-Neon-Laser
HEC	Hydroxyethylcellulose
HES	Hydroxyethylstärke
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HPC	Hydroxypropylcellulose
HPLC	High Pressure Liquid Chromatographie
I	Intensität
$I_0$	Primärstrahlintensität
$I_\vartheta$	Streuintensität beim Winkel $\vartheta$

Abkürzung	Bedeutung
IR	Infrarot
Isot.	Isotonisch
K	Konstante Streulichtkonstante Kelvin
k.A.	Keine Angabe
$K_{SEC}$	Verteilungskoeffizient der Größenausschlusschromatographie
l	Liter Länge
LALLS	Low Angle Laser Lightscattering, Kleinwinkellaserlichtstreuphotometer
LS	Lichtstreuung Streulicht
Lsg.	Lösung
M	Molmasse Molare
$M_{GPC}$	Molmasse aus der relativen Bestimmung der Gelpermeationschromatografie über Kalibrierungsgraden
$M_n$	Zahlenmittlere Molmasse
$M_p$	Molmasse im Peakmaximum
$M_{SEC}$	Molmasse aus der relativen Bestimmung der Größenausschlusschromatografie über Kalibrierungsgraden
$M_w$	Gewichtsmittlere Molmasse
$M_z$	Z-mittlere Molmasse
$M_\eta$	Viskositätsmittlere Molmasse
$M_w/M_n$	Polydispersität
$M_z/M_w$	Polydispersität
MALLS	Multi Angle Laser Light Scattering, Vielwinkellaserlichtstreuphotometer
MC	Methylcellulose
MHEC	Methylhydroxyethylcellulose
min.	Minuten
ml	Milliliter
MS	Molarer Substitutionsgrad Massenspektrometer
mol/l	Mol pro Liter
MPS	Mononukleären Phagozytierenden System
n	Teilchenzahl Brechungsindex
n.b.	Nicht bestimmbar
$n_g$	Brechungsindex Glas
N	Teilchenanzahl
$N_v$	Teilchenzahldichte
NAD	Nicotinamidadenindinucleotid
NMR	Nucleous Magnetic Resonanz, kernmagnetische Resonanz
p	Druck
$P_9$	Partikelstrefunktion
PC	Personal Computer
ppm	Parts per million
q	Streuvektor

Abkürzung	Bedeutung
r	Radius Detektorabstand
$r_{\text{rms}}$	Radius gemittelt über alle Zustände (radius root mean square)
R	Universelle Gaskonstante
$R_{\text{Gz}}$	Gyrationsradius
$R_{\text{g}}$	Rayleighverhältnis der Streulichtintensität
RES	Retikuloendotheliales System
RI	Refraktometer
$\Delta S^0$	Entropie
SEC	Size Exclusion Chromatography, Größenausschlusschromatographie
sin	Sinus
T	Temperatur
TMSP	Trimethylsilylpropionsäure-Natriumsalz (interner Standard $^{13}\text{C}$ -NMR)
U	Umdrehungen
UV/VIS	Ultraviolett und sichtbarer Bereich des Lichts
V	Volumen
$V_0$	Zwischenkornvolumen
$V_e$	Elutionsvolumen
$V_p$	Porenvolumen
WMS	Wachsmaisstärke
WR	Wiederfindungsrate
wt	Weight, Gewicht
$x_i$	Partieller Substitutionsgrad
$x_2$	Partieller Substitutionsgrad an der C-2-Position
$x_3$	Partieller Substitutionsgrad an der C-3-Position
$x_6$	Partieller Substitutionsgrad an der C-6-Position
$\alpha$	Axiale Stellung der anomeren Hydroxylgruppe an C-1
$\alpha_{\text{Pol}}$	Polarisierbarkeit
$\beta$	Äquatoriale Stellung der anomeren Hydroxylgruppe an C-1
$\varepsilon$	Dielektrizitätskonstante
$\vartheta$	Extinktionskoeffizient
$\vartheta$	Streuwinkel
$\lambda$	Wellenlänge
$\lambda_0$	Wellenlänge im Vakuum
$\eta$	Viskosität
$\eta_{\text{rel}}$	Relative Viskosität
$[\eta]$	Staudingerindex, intrinsische Viskosität
$\mu\text{l}$	Mikroliter
$\pi$	Kolloidosmotischer Druck
	Pie (3,14...)
v	Aufweitungsparameter der $R_{\text{G}}$ -M-Beziehung Stromzeitvolumen

## 9 Literaturverzeichnis

<i>Nummer</i>	<i>Literatur</i>
---------------	------------------

### Kapitel: Einleitung

- [1] Mann, S., *Nachwachsende Rohstoffe*, Ulmer Verlag, Stuttgart, **1998**
- [2] Waskow, F., *Leitfaden Nachwachsender Rohstoffe*, C. F. Müller Verlag, Heidelberg, **1998**
- [3] Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, *5. Symposium Nachwachsender Rohstoffe - Perspektiven für die Chemie*, Köllen Druck+Verlag GmbH, Bonn, **1997**
- [4] Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, *Bericht des BML 5 Jahre Nachwachsende Rohstoffe 1993-1997*, Köllen Druck+Verlag GmbH, Bonn, **1998**
- [5] Elias, H.-G., *Makromoleküle Band 3 Industrielle Polymere und Synthesen*, 6. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim, **2001**
- [6] [http://www.chemische-industrie.de/fr\\_showdokument.asp?DokNr=5587&userid=](http://www.chemische-industrie.de/fr_showdokument.asp?DokNr=5587&userid=)  
Konzeption des Fachausschusses Nachwachsende Rohstoffe - Bedeutung für die Chemie
- [7] Kulicke, W.-M., *Fließverhalten von Stoffen und Stoffgemischen*, Hüthig & Wepf Verlag, Heidelberg, **1986**

### Kapitel: Stärke und Stärkederivate

- [8] *CD Römpp Chemie Lexikon*, Thieme Verlag, Stuttgart **1995**
- [9] Tegge, G., *Stärke und Stärkederivate*, Behr's Verlag, Hamburg **1984**
- [10] Vorweg, W., *Überblick zum Forschungsverbund Modifizierte Stärken der Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e. V.*, **1998**
- [11] Seidemann, J., *Stärke-Atlas Grundlagen der Stärke-Mikroskopie und Beschreibung der wichtigsten Stärkearten*, Paul Parey Verlag für Landwirtschaft, Berlin, **1966**
- [12] Czaja, A. T., *Die Mikroskopie der Stärkekörner*, Paul Parey Verlag für Landwirtschaft, Berlin, **1969**
- [13] <Http://www.foodnews.ch/x-plainmefood/lebensmittel/Staerke.html>

<i>Nummer</i>	<i>Literatur</i>
---------------	------------------

### Kapitel: Blutplasmaersatzmittel

- [14] Mutschler, E., *Arzneimittelwirkungen, Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*, 7. Auflage, Stuttgart **1997**
- [15] Ragaller, M. J. R., Theilen, H., Koch, T., *Volume replacement in critically ill patients with acute renal Failure*, in: J. Am. Soc. Nephrol., **2001**, 12, 33-39
- [16] van der Sande, F. M., Luick, A. J., Kooman, J. P., Verstappen, V., Leunissen, M. L., *Effect of Intravenous Fluids on Blood Pressure Course during Hemodialysis in Hypotensive-Prone Patients*, in: J. Am. Soc. Nephrol., **2000**, 11, 550-555
- [17] Singer, P., Kogan, A., Zolotarski, V., Grozovski, E., Cohen, J., *Extracellular fluid variations during a fluid challenge – a comparison of normal saline (NS) and hydroxyethyl starch (HES) in stressed patients*, in: Crit. Care, **1999**, 3, 152
- [18] Lutz, H., *Plasmaersatzmittel*, 4. Auflage, Stuttgart **1986**
- [19] Erhart, G., Ruschig, H., *Arzneimittel*, 1. Auflage, Verlag Chemie, Weinheim, **1968**
- [20] Lundsgaard-Hansen, P., Lenggenhager, K., *Nebenwirkungen bei Plasmaersatzmitteln*, in: Praxis, **1969**, 4, 103-108
- [21] Dietrich, H.-J., *Kolloide in der Intensivmedizin*, in: Anaesthesist, **2001**, 50, 54-68
- [22] Heins, D., *Charakterisierung von Stärkederivaten mittels Größenausschlusschromatographie, Fluss-Feldfluss-Fraktionierung und Lichtstreuung*, Dissertation Universität Hamburg, **2000**, 11
- [23] Eigner, W.-D., *Hydroxyethylstärke – Molmassenbestimmung von Hydroxyethylstärke in Elektrolytlösung nach Temperaturbelastung*, in: Krankenhauspharmazie, **1988**, 9 (1), 20-22
- [24] Treib, J., Grauer, T., Haas, A., *Efficacy of plasma substitutes for a volume therapy*, in: Volume Therapy, Berlin, Springer Verlag, **1999**, 78-122
- [25] Jung, F., Waldhausen, P., Spitzer, S., Mrowietz, C., Häuser, B., Wenzel, E., *Hämorrheologische, mikro- und makrozirkulatorische Effekte einer hypovolämischen Hämodilution mit mittelmolekularer Hydroxyäthylstärke (HAES 200/0,62; 6%)*, in: Infusionstherapie, **1988**, 15, 265-271
- [26] Ehrly, A. M., *Gewebesauerstoffdruck und Blut-Fließeigenschaften bei Patienten mit Claudicatio intermittens nach Infusion verschiedener Plasmaersatzstoffe*, in: Hämorrheologie und operative Medizin, München, Münchner Wissenschaftliche Publikationen, **1988**, 152-158
- [27] Lang, K., Boldt, J., Suttner, S., Haisch, G., *Colloids versus crystalloids and tissue oxygen tension in patients undergoing major abdominal surgery*, in: Anesth. Analg., **2001**, 93, 405-409
- [28] Schroeder, F., Standl, T. G., Nierhaus, A., Burmeister, M. A., Schulte am Esch, J., *Tissue oxygenation during acute normovolemic hemodilution with a newly designed hydroxyethyl starch solution in volunteers*, in: Anesthesiology, **2000**, 93 (3A), P203
- [29] Artikel : *Der große Schwindel*, in : Morgenpost, **4/12/1998**, 50

<i>Nummer</i>	<i>Literatur</i>
[30]	World Anti-Doping Agency, <i>Out-Of-Competition Testing Program Report</i> , <b>08.02.2002</b>
[31]	Thevis, M., Opfermann, G., Schänzer, W., <i>Nachweis des Plasmavolumenexpanders Hydroxyethylstärke in Humanurin</i> , in: Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin, <b>2001</b> , 52
[32]	Streppel, M., Wittekindt, C., v. Wedel, H., Walger, M., Eckel, H. E., Michel, O., Stennert, E., <i>Zur Therapie der progressiven kindlichen Schwerhörigkeit mit einem antiphlogistisch-rheologischen Infusionsschema</i> , in: Monatsschrift Kinderheilkunde, <b>2002</b> , 3, 310-315
[33]	Pöhlmann, R., <i>Hydroxyethylstärke Chemische Charakterisierung und Pharmakokinetik</i> , in: Krankenhauspharmazie, <b>1991</b> , 12(11), 496-498
[34]	Bepperling, F., Opitz, J., Leuschner, J., <i>HES 130/0.4, a new HES specification: tissue storage after multiple infusions in rats</i> , in: Crit. Care, <b>1999</b> , 3, 153
[35]	Asskali, F., Wind, St., Moundrianakis, J., Förster, H., <i>Hochdosierte Infusion von Volumenersatzmittel (Hydroxyethylstärke, Acetylstärke, Gelatinederivat versus Ringerlactat) im Tierversuch</i> , in : Anaesthesist, <b>1994</b> , Suppl. 1, 43, 260
[36]	Asskali, F., Förster, H., <i>Acetyl-Stärke, Volumenersatz der Zukunft ?</i> , in: Anaesthesist, <b>1994</b> , Suppl. 1, 43, 11
[37]	Sirtl, C., Laubenthal, H., Zumtobel, V., Kraft, D., Jurecka, W., <i>Tissue deposits of hydroxyethyl starch (HES) – dose-dependent and time-related</i> , in: British Journal of Anaesthesia, <b>1999</b> , 82, 4, 510-515
[38]	Ginz, H. F., Gottschall, V., Schwarzkopf, G., Walter, K., <i>Exzessive Gewebespeicherung von Kolloiden im retikuloendothelialen System</i> , in: Anaesthesist, <b>1998</b> , 47, 330-334
[39]	Morgan, P. W., Berridge, J. C., <i>Giving lon-persistent starch as volume replacement can cause pruritus after cardiac surgery</i> , in: British Journal of Anaesthesia, <b>2000</b> , 85, 5, 696-699
[40]	<a href="http://www.deutsche-gefaessliga.de/kurznotiert.shtml">http://www.deutsche-gefaessliga.de/kurznotiert.shtml</a>
[41]	Jurecka, W., <i>Befunde zur Speicherung künstlicher Kolloide beim Menschen</i> , in: Anästhesiol Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther., <b>1998</b> , 33, 264-265
[42]	Cittanova, M. L., LeBlanc, I., Legendre, C., Mouquet, C., Riou, B., Coriat, P., <i>Effects of hydroxyethyl starch in brain-dead kidney donors on renal function in kidney-transplant recipients</i> , in: Lancet, <b>1996</b> , 348, 1620-1622
[43]	Ehrly, A.M., Hörl, W. H., Schmitz, J. E., Staedt, U., <i>Stellungnahme zu der Bekanntgabe der Arzneimittelkommission der Deutschen Ärzteschaft: Nochmals: „Vorsicht bei Hämodilutionstherapie mit Hydroxyethylstärke (HES)“</i> , in: Dtsch. Ärztebl., <b>1993</b> , 90, B-2425
[44]	Boldt, J., <i>Volumenersatz beim schwerkranken Intensivpatienten</i> , in: Anaesthesist, <b>1998</b> , 47, 778-785
[45]	Förster, H., Asskali, F., Nitsch, E., <i>„Metabolisierbarer Plasmaersatz“</i> , Offenlegungsschrift DE 41 22 999 A 1, <b>14.1.1993</b>
[46]	Förster, H., <i>„Einführung: Hydrokolloide im Vergleich mit Albumin“</i> , in: Anaesthesist, <b>1994</b> , 43 (Suppl. 1), 9.

<i>Nummer</i>	<i>Literatur</i>
[47]	Asskali, F., Warnken, U., Förster, H., „Acetylstärke als Volumenersatz, eine mögliche Alternative zu HES“, in: Dtsch. Med. Wschr. <b>2001</b> , 126, 1.
[48]	Asskali, F., Wind, S., Moudrianakis, J., Förster, H., <i>Endotoxinclearance und Phagozytoseaktivität nach hochdosierter Infusion von Volumenersatzmittel (Hydroxyethylstärke, Acetylstärke, Gelatinederivat versus Ringerlactat) im Tierversuch</i> , in: Anaesthesist, <b>1994</b> , 43 (Suppl. 1), 227
[49]	Meier, B., Assakli, F., Abasi, Z. M., Förster, H., <i>Intraoperative Blutvolumenbestimmung mit Hydroxyethylstärke. – Eine einfache und schnelle Methode zur Erfassung von Blutverlusten</i> , in: Anaesthesist, <b>1994</b> , 43 (Suppl. 1), 230

### Kapitel: Cellulose und Cellulosederivate

- [50] Eisenbrand, G., Schreier, P., *Römpp Lexikon Lebensmittelchemie*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1995**, 168 - 170
- [51] Fugmann, B., *Römpp-Lexikon Naturstoffe*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1997**, 118-119
- [52] Jakubke, H.-D., Jeschkeit, H., Brockhaus Chemie Band 1 und 2, VEB F. A. Brockhaus Verlag, Leipzig, **1987**

### Kapitel: Theoretische Grundlagen

#### (Molmassenverteilung und Molmassenmittelwerte, Molmassenbestimmung, Lösungsstruktur von Polymeren)

- [53] Kratochvil, P., *Classical Light Scattering from Polymer Solution*, Elsevier, Amsterdam, **1987**
- [54] Vollmert, B., *Grundriß der Makromolekularen Chemie*, E. Vollmert Verlag, Karlsruhe, **1979**
- [55] Flory, P. J., *Die Konformation linearer Moleküle (Nobel-Vortrag)*, in: Angew. Chem., **1975**, 22, 787
- [56] Elias, H.-G., *Makromoleküle: Struktur, Eigenschaften, Synthesen, Stoffe, Technologie*, 4. Auflage, Hüttig und Wepf Verlag, Heidelberg, **1981**
- [57] Flory, P. J., Fox, T. G., *Treatment of Intrinsic Viscosities*, in: J. Am. Chem. Soc., 1951, **Vol. 73**, 1904
- [58] Yamakawa, H., *Modern Theory of Polymer Solutions*, Harper & Row, New York, **1971**

<i>Nummer</i>	<i>Literatur</i>
---------------	------------------

### Kapitel: Größenausschlusschromatographie

- [59] Mori, S., Barth, H. G., *Size Exclusion Chromatography*, Springer, Berlin, **1999**
- [60] Porath, J., Flodin, P., *Gel filtration: a method for desalting and group separation.*, in: *Nature*, **1959**, 183(4676), 1657-1659
- [61] Porath, J., *Fractionation of polypeptides and proteins on dextran gels.*, in: *Clin Chim Acta*, **1959**, 4, 776-778.
- [62] Porath, J., *Gel filtration of proteins, peptides and amino acids.*, in: *Biochim Biophys Acta*, **1960**, 39, 193-207
- [63] Knox, J. H., Pryde, A., *Performance and selected applications of a new range of chemical Bonded Packing Materials in High-Performance Liquid Chromatography*, in: *Journal of Chromatography*, **1975**, 112, 171-188
- [64] Kato, Y., Matsuda, T., Hashimoto, T., *New Gel Permeation Column for the Separation of watersoluble Polymers*, in: *Journal of Chromatography*, **1985**, 332, 39-46
- [65] Barth, H. G., Boyes, B. E., Jackson, C., *Size Exclusion Chromatography and Related Separation Techniques*, in: *Anal. Chem.*, **1998**, 70, 251R-278R
- [66] Yang, G.; Zhang, L.; Xiong, X.; Cao, X.; Yang, Y., *Size exclusion chromatographic column packed with regenerated cellulose gels*, in: *Chinese Journal of Polymer Science*, **2001**, 19(4), 415-419
- [67] Coutinho, F. M. B., Neves, M. A. F. S., Dias, M. L., *Porous crosslinked spherical resins for diversified applications: packing materials for size exclusion chromatography*, in: *Macromolecular Symposia*, **2002**, 189 (Polymer Science Insights), 27-43
- [68] Sakai, K.; Teng, T. C.; Katada, A.; Harada, T.; Yoshida, K.; Yamanaka, K.; Asami, Y.; Sakata, M.; Hirayama, C.; Kunitake, M., *Designable Size Exclusion Chromatography Columns Based on Dendritic Polymer-Modified Porous Silica Particles*, in: *Chemistry of Materials*, **2003**, 15(21), 4091-4097
- [69] Determann, H., *Gel Chromatography*, Springer, Berlin, **1968**
- [70] Altgelt, K. H., Segal, L., *Gel Permeation Chromatography*, Dekker, New York, **1971**
- [71] Snyder, L. R., Kirkland, J. J., *Introducing to Modern Liquid Chromatography*, Wiley, New York, **1979**
- [72] Yau, W. W., Kirkland, J. J., Bly, D. D., *Modern Size Exclusion Chromatography*, Wiley, New York, **1979**
- [73] Kremmer, T., Boross, L., *Gel Chromatography*, Wiley New York, **1979**
- [74] Provder, T., *Size Exclusion Chromatography Methodology and Characterization of Polymers and related Materials*, American Chemical Society, Washington, D. C., **1984**
- [75] Dubin, P. L., *Aqueous Size Exclusion Chromatography*, Elsevier, Amsterdam, **1988**

<i>Nummer</i>	<i>Literatur</i>
[76]	Hunt, B. J., Holding, S. B., <i>Size Exclusion Chromatography</i> , Chapman and Hall, New York, <b>1989</b>
[77]	Aced, G., Möckel, H. J., <i>Liquidchromatographie Apparative, theoretische und metodische Grundlagen der HPLC</i> , VCH, Weinheim, <b>1991</b>
[78]	Wu, C.-S., <i>Handbook of Size Exclusion Chromatography</i> , Dekker, New York, <b>1995</b>
[79]	Giddings, J. C., Kucera, E., Russel, C. P., Myers, M. N., Statistical theory for the equilibrium distribution of rigid molecules in inert porous networks. <i>Exclusion Chromatography</i> , in: <i>J. Phys. Chem.</i> , <b>1968</b> , 72, 4397.
[80]	van Krevelde, M. E., van den Hoed, N., Mechanism of gel permeation chromatography distribution coefficient, in: <i>J. Chrom.</i> , <b>1973</b> , 83, 111
[81]	Elias, H.-G., <i>Makromoleküle – Physikalische Strukturen und Eigenschaften, Band 2</i> , 6. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim, <b>2001</b>
[82]	Grubisic, Z., Rempp, P., Benoit, H., in: <i>J. Polym. Sci. Polym. Lett</i> , <b>1967</b> , Vol. 5, S753-759
[83]	Segudovic, N., <i>Additional separation mechanisms in high performance size-exclusion chromatography</i> , in: <i>Polimeri</i> , <b>1999</b> , 20(1-2), 19-28
[84]	Kulicke, W.-M., Böse, N., <i>Bestimmung der Molmassenverteilung sowie der Stabilitätsgrenze von Polyacrylamiden unter Benutzung einer kombinierten SEC/LALLS Anlage</i> , in: <i>Colloid &amp; Polymer Sci.</i> , <b>1984</b> , 262, 197-207
[85]	Ikeda, J.; Oe, H.; Aota, H.; Matsumoto, A., <i>Influence of structural parameters on the degradation of ultrahigh-molecular-weight vinyl-type network-polymer precursors during elution through size exclusion chromatography columns</i> , in: <i>Journal of Applied Polymer Science</i> , <b>2003</b> , 90(2), 577-582
[86]	Aust, N.; Parth, M.; Lederer, K., <i>SEC of ultra-high molar mass polymers: optimization of experimental conditions to avoid molecular degradation in the case of narrow polystyrene standards</i> , in: <i>International Journal of Polymer Analysis and Characterization</i> , <b>2001</b> , 6(3-4), 245-260
[87]	Aust, N., <i>Application of size-exclusion chromatography to polymers of ultra-high molar mass</i> , in: <i>Journal of Biochemical and Biophysical Methods</i> , <b>2003</b> , 56(1-3), 323-334
[88]	Dauwe, C., Hofe, T., Reinhold, G., <i>Flüssigchromatographie: Vielseitiges Medium für GPC-, Bio- und Polymeranalysen</i> , in: <i>Chemie in Labor und Biotechnik</i> , <b>2000</b> , Heft 5, 51, 174-179
[89]	Norton, T. T., Fernandez, E. J., <i>Viscous Fingering in Size Exclusion Chromatography: Insights from numerical simulation</i> , in: <i>Ind. Eng. Chem. Res.</i> , <b>1996</b> , 35, 2460-2468
[90]	Fernandez, E. J., Norton, T. T., Jung, W. C., Tsavalas, J. G., <i>A Column Design for reducing Viscous Fingering in Size Exclusion Chromatography</i> , in: <i>Biotechnol. Prog.</i> , <b>1996</b> , 12, 480-487

<i>Nummer</i>	<i>Literatur</i>
[91]	Casartelli, E. A.; Miekeley, N., <i>Determination of thorium and light rare-earth elements in soil water and its high molecular mass organic fractions by inductively coupled plasma mass spectrometry and on-line-coupled size-exclusion chromatography</i> , in: Analytical and Bioanalytical Chemistry, <b>2003</b> , 377(1), 58-64
[92]	Koplik, R.; Pavelkova, H.; Cincibuchova, J.; Mestek, O.; Kvasnicka, F.; Suchanek, M., <i>Fractionation of phosphorus and trace elements species in soybean flour and common white bean seeds by size exclusion chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry</i> , in: Journal of Chromatography, B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, <b>2002</b> , 770(1-2), 261-273
[93]	Prokai, L.; Simonsick, W. J., Jr., <i>Size-exclusion chromatography with on-line mass spectrometric detection: Techniques and applications</i> , in: Abstracts of Papers, 225th ACS National Meeting, New Orleans, LA, United States, March 23-27, <b>2003</b>
[94]	Jacobs, A., Dahlmann, O., <i>Characterization of the Molar Masses of Hemicelluloses from Wood and Pulps employing Size Exclusion Chromatography and Matrix-Assited Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry</i> , in: Biomacromolecules, <b>2001</b> , 2, 894-905
[95]	Reemtsma, T.; These, A., <i>On-line Coupling of Size Exclusion Chromatography with Electrospray Ionization-Tandem Mass Spectrometry for the Analysis of Aquatic Fulvic and Humic Acids</i> , in: Analytical Chemistry, <b>2003</b> , 75(6), 1500-1507
[96]	Kaivez, A.; Gallez, X. A.; Daoust, D.; Devaux, J.; Godard, P., <i>Molecular structure characterization of linear and branched polystyrene blends by size exclusion chromatography coupled with viscometry</i> , in: Polymer, <b>2002</b> , 43(11), 3181-3190
[97]	Neiss, T. G.; Cheng, H. N., <i>Coupled SEC-NMR analysis of alginates</i> , ACS Symposium Series, <b>2003</b> , 834, 382-395
[98]	Laborda, F., Vicente, M. V., Mir, J. M., Castillo, J. R., <i>Evaluation of on-line coupling size exclusion chromatography electrothermal atomic absorption spectrometry for selenium speciation</i> , in: Fresenius J. Anal. Chem., <b>1997</b> , 357, 837-843
[99]	Mrkvičková, L., Porsch, B., Sundelöf, L.-O., <i>Study of Poly(methyl methacrylate) Stereocomplexes by Size Exclusion Chromatography and Dynamic Light Scattering</i> , in: Macromolecules, <b>1999</b> , 32, 1189-1193
[100]	Gorner, T.; de Donato, P.; Ameil, M.-H.; Montarges-Pelletier, E.; Lartiges, B. S., <i>Activated sludge exopolymers: separation and identification using size exclusion chromatography and infrared micro-spectroscopy</i> , in: Water Research, <b>2003</b> , 37 (10), 2388-2393
[101]	Kok, S. J.; Arentsen, N. C.; Cools, P. J. C. H.; Hankemeier, Th.; Schoenmakers, P. J., <i>Fourier transform infrared spectroscopy with a sample deposition interface as a quantitative detector in size-exclusion chromatography</i> , in: Journal of Chromatography A, <b>2002</b> , 948(1-2), 257-265
[102]	Verdurmen-Noël, L., Baldo, L., Bremmers, S., <i>SEC-FTIR characterization of semi-crystalline HDPE and PP</i> , in: Polymer, <b>2001</b> , 42, 5523-5529

<i>Nummer</i>	<i>Literatur</i>
[103]	Hong, L.; Wang, X.; Tang, X., <i>Studies on hyperbranched polyurethane by multidetector size exclusion chromatography</i> , in: Journal of Applied Polymer Science, <b>2002</b> , 85(11), 2445-2450
[104]	Xie, R.; Brun, Y.; Gorenstein, M. V., <i>System and method for determining radius of gyration, molecular weight, and intrinsic viscosity of a polymeric distribution using gel permeation chromatography and light-scattering detection</i> , <b>2003</b> , Patent WO 2003036258

### Kapitel: Lichtstreuung

- [105] Atkins, P. W., *Physikalische Chemie*, VCH, Weinheim, **1990**, 632-635
- [106] Rayleigh, J., Strutt, J. W., *On James Bernoulli's theorem in probabilities*, in: Philosophical Magazine, **1899**, 47/5, 246-251
- [123] Einstein, A., *Eine neue Bestimmung der Moleküldimension*, in: Ann. Phys., **1906**, 19, 289-306
- [107] Einstein, A., *Theorie der Opaleszenz von homogenen Flüssigkeiten und Flüssigkeitsgemischen in der Nähe des kritischen Zustandes*, in: Ann. Phys., **1910**, 33, 1275
- [124] Einstein, A., *Berichtigung zu meiner Arbeit : Eine neue Bestimmung der Moleküldimension*, in: Ann. Phys., **1911**, 34, 591-592
- [108] Smoluchowski, M., in: Ann. Phys., **1908**, 25, 205
- [109] Smoluchowski, M., in: Phil. Mag., **1912**, 23, 165
- [110] Raman, C. V., *A new radiation*, in: Indian J. Phys., **1928**, 2, 387
- [111] Debye, P., *Light Scattering in Solutions*, in: J. Appl. Phys., **1944**, 15, 338-342
- [112] Zimm, B. H., in: Chem. Phys., **1945**, 13, 141
- [113] Zimm, B. H., *The Scattering of Light and the Radial Distribution Function of High Polymer Solutions*, in: Journal of Chemical Physics, **1948**, 12, 1093-1116
- [114] Arndt, K.-F., Müller, G., *Polymercharakterisierung*, Carl Hanser Verlag, München, **1996**, 115-142
- [115] Hoffmann, M., *Polymeranalytik*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1977**, 225-226; 298-307
- [116] Tieke, B., *Makromolekulare Chemie : Eine Einführung*, VCH, Weinheim, **1997**, 213-219; 224-227
- [117] Wyatt Technology, *Unterlagen zum Userforum – GPC-LS-Kopplung: Grundlagen und Praxis*, **1999**
- [118] Mie, G., *Beiträge zur Optik trüber Medien spezieller kolloidaler Metalllösungen*, in: Annalen der Physik, **1908**, 25, 377-445
- [119] Andersson, M., A., Wittgren, B., Wahlund, K.-G., *Accuracy in Multiangle Light Scattering Measurements for Molar Mass and Radius Estimations. Model Calculations and Experiment*, in: Analytical Chemistry, **2003**, 75 (16), 4279-4291

<i>Nummer</i>	<i>Literatur</i>
---------------	------------------

### Kapitel: Refraktometrie

- [120] Wyatt Technology Corporation, *The Optilab DSP*, Technische Dokumentation, **1995**
- [121] Brandrup, J., Immergut, E. H., Grulke, E. A., *Polymer Handbook*, Wiley, New York, **1999**

### Kapitel: Viskosimetrie

- [122] Kulicke, W.-M., Clasen, C., *Viscosimetry of Polymers and Polyelectrolytes*, Springer Verlag, Berlin, **2004**
- [123] Einstein, A., *Eine neue Bestimmung der Moleküldimension*, in: Ann. Phys., **1906**, 19, 289–306
- [124] Einstein, A., *Berichtigung zu meiner Arbeit : Eine neue Bestimmung der Moleküldimension*, in: Ann. Phys., **1911**, 34, 591-592

### Kapitel: Ultraschalldegradation von Polymeren

- [125] Flosdorf, E. W., Chambers, L. A., in: J. Am. Chem. Soc., **1933**, 55 , 3051
- [126] Basedow, A. M., Ebert, K. H., *Ultrasonic Degradation of Polymers in Solution*, in: Adv. Polym. Sci., **1977**, 22, 83-148
- [127] Didenko, Y. T., McNamara III, W. B., Suslick, K. S., in: Nature, **2000**, 407, 877-879
- [128] Nguyen, T. Q., Liang, Q. Z., Kausch, H.-H., in: Polymer, **1997**, 38, 3783-3793
- [129] Milas M., Rinaudo, M., Tinland B., in: Carbohydr. Polym., **1986**, 6, 95
- [130] Malhotra, S. L., *Ultrasonic degradation of hydroxypropylcellulose solutions in water, ethanol and tetrahydrofuran*, in: J. Macromol. Sci., Chem., **1982**, A17 (4), 601-636
- [131] Kulicke, W.-M., Otto, M., Baar, A., *Improved NMR characterisation of high-molecular-weight polymers and polyelectrolytes through the use of preliminary ultrasonic degradation*, in: Makromol. Chem., **1993**, 194, 751 - 765
- [132] Argarwal, U. S., in: e-Polymers, **2002**, 14, 1-15
- [133] Odell, J. A., Keller, A., in: J. Pol. Sci. B, **1986**, 24, 1889-1916
- [134] Yasui, K. J., in: J. Acoust. Soc. Am., **1995**, 98, 2772-2782

<i>Nummer</i>	<i>Literatur</i>
---------------	------------------

### Kapitel: Ergebnisse

- [135] Heins, D., *Charakterisierung von Stärkederivaten mittels Größenausschlusschromatographie, Fluss-Feldfluss-Fraktionierung und Lichtstreuung*, Dissertation Universität Hamburg, **2000**
- [136] Thielking, H., *Querflußfraktionierung/Lichtstreuung*, Dissertation Universität Hamburg, **1997**
- [137] Adolphi, U., *Untersuchung der Lösungsstruktur wasserlöslicher Polysaccharide mittels kombinierter Querflußfraktionierung und Lichtstreuung*, Dissertation Universität Hamburg, **1996**
- [138] Roessner, D., *Entwicklung der neuartigen Methode Programmed Force Field Flow Field-Flow Fractionation/Multi-Angle Laser Light Scattering und Anwendung der Size Exclusion Chromatography/Multi-Angle Laser Light Scattering Methode zur Strukturanalyse hoch- und niedermolekularer wasserlöslicher Polysaccharide*, Dissertation Universität Hamburg, **1994**
- [139] Roessner, D., *Untersuchung von unterschiedlichen Polysaccharidstrukturen mit Hilfe der Lichtstreuung*, Diplomarbeit Universität Hamburg, **1992**
- [140] Laevosan G.m.b.H., *ExpaHES (HES200/0,5) 10%*, Linz, Produktinformation **2/1994**
- [141] Gosch, C., Haase, T., Wolf, B. A., Kulicke, W.-M., *Molar Mass Distribution and Size of Hydroxyethyl Starch Fractions Obtained by Continuous Polymer Fractionation*, in: *Starch/Stärke*, **2002**, 54, 375
- [142] Kulicke, W.-M., Roessner, D., Kull, W., *Characterization of Hydroxyethyl Starch by Polymer Analysis for use as a Plasma Volume Expander*, *Starch/Stärke* **1993**, 45 (12), 445
- [143] Sommermeyer, K., Cech, F., Schmidt, M., Weidler, B., *Klinisch verwendete Hydroxyethylstärke: Physikalisch-chemische Charakterisierung*, in: *Krankenhauspharmazie* **1987**, 8 (8), 271
- [144] Gosch, C. I., *Polymeranalytische Charakterisierung mittels Größenausschlusschromatographie, Fluß Feld-Flußfraktionierung und Lichtstreuung von Polysaccharid-Derivaten*, Dissertation Universität Hamburg, **2002**
- [145] Deutsches Patent DE 19951734A1, **1999**
- [146] Suttner, S., Boldt, J., *Stärke und Niere*, in: *HAES-info*, **2002**, 16, 1-8
- [147] Liebert, T., *Bericht zur Synthese von 2-O-Acetylstärke mit definierter Molmasse*, Arbeitsbericht **25.04.2002**
- [122] Kulicke, W.-M., Clasen, C., *Viscosimetry of Polymers and Polyelectrolytes*, Springer Verlag, Berlin, **2004**
- [148] Vogel, G., Angermann, H., *DTV-Atlas zur Biologie Tafeln und Texte Band 2*, 6. Auflage, Deutscher Taschenbuch Verlag, München, **1992**
- [149] Matthies, D., *Biochemische Formelsammlung – Struktur und Funktion fundamentaler Biomoleküle*, 2. Auflage, AULA-Verlag, Wiesbaden, **1990**

<i>Nummer</i>	<i>Literatur</i>
[150]	Boehringer Mannheim GmbH, <i>Benutzerinformation – Enzymkit Essigsäurenachweis</i> , <b>2003</b>
[151]	Hesse, M., Meier, H., Zeeh, B., <i>Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie</i> , 4. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, <b>1991</b>
[152]	www.aist.go.jp/RIODB/SDBS/menue-e.html
[153]	Kobayashi, K., Huang, C.-i, Lodge, T. P., <i>Thermoreversible Gelation of Aqueous Methylcellulose Solutions</i> , in: <i>Macromolecules</i> , <b>1999</b> , 32, 7070-7077
[154]	www.wolff-cellulosics.de
[155]	DOW Chemical Company, <i>Leitfaden für die Produktauswahl Methocel – Cellulosederivate für die Lebensmittelindustrie</i> , Produktinformation
[156]	Altunina, L., Kushinov, V., <i>Flow properties and oil-displacing capacity of gel-forming system based on application in coordinating solvents</i> , in: <i>Progress in Mining and Oilfield Chemistry</i> , <b>2001</b> , 3, 67-76
[157]	Kirk, R. E., Othmer, D. F., <i>Encyclopedia of chemical technology</i> , John Wiley & Sons, New York, <b>1979</b>
[158]	Ibbett, R. N., Philp, K., Price, D. M., <i><sup>13</sup>C NMR studies of thermal behavior of aqueous solutions of cellulose ethers</i> , in: <i>Polymer</i> , <b>1992</b> , 33, 4087-4094
[159]	Bartsch, S., <i>Charakterisierung kolloidaler Systeme mittels Größenausschlusschromatographie, Querflußfraktionierung und Lichtstreuung</i> , Dissertation Universität Hamburg, <b>1998</b>
[160]	Zhang, L.-M., <i>Cellulosics associative thickeners</i> , <i>Carbohydrate Polymers</i> , <b>2001</b> , 45, 1-10
[161]	Majewicz, T. G., Young, T.-S., <i>Hydrophobically modified cellulosics thickeners for paper coating</i> , <b>1991</b> , U:S: Paten 4 994 112
[162]	Chan, A. N., Clayton, A. B., Modi, J. J., <i>Low VOC hair sprays containing cellulose ethers</i> , <b>1998</b> , U.S. Patent 5 804 166
[163]	Kaiser, U., <i>Bestimmung der Molmassen und Molmassenverteilungen zur Charakterisierung von Polysacchariden</i> , Dissertation Universität Hamburg, <b>1991</b>
[164]	Griebel, T., <i>Der Einfluß der molekularen Struktur auf die viskoelastischen Eigenschaften von wäßrigen Natriumcarboxymethylcelluloselösungen</i> , Dissertation Universität Hamburg, <b>1992</b>
[165]	Pfefferkorn, P., Beister, J., Hild, A., Thielking, H., Kulicke, W.-M., <i>Determination of the molar mass and the radius of gyration, together with their distributions for methylhydroxyethylcelluloses</i> , in: <i>Cellulose</i> , <b>2003</b> , 10, 27-36
[166]	Voragen, A. C. J., Pilinik, W., Alginates, <i>Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry</i> , 5 <sup>th</sup> Edition, Volume A25, VCH Weinheim, <b>1994</b> , 40

## Lebenslauf

---

Name	Pascal Marco Joachim Pfefferkorn
Geburtsdatum und Ort	27 Mai 1974 in Hamburg
Staatsangehörigkeit	deutsch
Familienstand	ledig
Schulbildung	
06/1993	Abitur an der Julius Leber Schule, Hamburg
Studium der Chemie	
10/1993	Beginn des Chemiestudiums an der Universität Hamburg
01/1996	Diplomvorprüfung an der Universität Hamburg
06/2000	Diplomhauptprüfung an der Universität Hamburg
11/2000 - 08/2001	Diplomarbeit bei Prof. Dr.-Ing. W.-M. Kulicke am Institut für Technische und Makromolekulare Chemie, Universität Hamburg Thema: „Bestimmung der Molmassen, der Trägheitsradien und deren Verteilungen von Methylhydroxyethylcellulosen durch die gekoppelte Größenausschlusschromatographie/Lichtstreuung“
08/2001 - 06/2004	Promotion im Arbeitskreis von Prof. Dr.-Ing. W.-M. Kulicke
Berufstätigkeit	
8/2001 - 08/2003	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Technische und Makromolekulare Chemie der Universität Hamburg

## Erklärung

---

Hiermit versichere ich, die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe ausgeführt und keine anderen als die genannten Quellen und Hilfsmittel benutzt zu haben.

Ich erkläre des weiteren, dass ich diese Arbeit nicht zuvor an anderer Stelle eingereicht habe.

Hamburg, 18.06. 2004

---

(Pascal Pfefferkorn)